

Aus dem Institut für Tierärztliche Nahrungsmittelkunde
der Justus Liebig-Universität zu Gießen
Direktor: Professor Dr. H. Bartels

**Über das Vorkommen von Schimmelpilzen
in den Faeces von Schwein und Rind
in fleischhygienischer Sicht**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
bei der Veterinärmedizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität zu Gießen

Eingereicht von
Hans Joachim Klare
Tierarzt aus Berlin

Gießen 1971



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545914_0006

Aus dem Institut für Tierärztliche Nahrungsmittelkunde
der Justus Liebig-Universität zu Gießen
Direktor: Professor Dr. H. Bartels

**Über das Vorkommen von Schimmelpilzen
in den Faeces von Schwein und Rind
in fleischhygienischer Sicht**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
bei der Veterinärmedizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität zu Gießen

Eingereicht von
Hans Joachim Klare
Tierarzt aus Berlin

Gießen 1971

Mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen Fakultät
in Gießen

Dekan: Professor Dr. G. Lämmner

Berichterstatter: Professor Dr. H. Bartels

Tag der mündlichen Prüfung: 8. Juli 1971



Inhaltsübersicht

	<u>Seite</u>
A. <u>Einleitung</u>	5
B. <u>Schrifttum</u>	8
I. 1. Definition des Begriffes Schimmelpilze und Stellung der Schimmelpilze in der mykologi- schen Systematik	8
2. Vorkommen, Wachstum und kulturelle Züchtung von Pilzen	11
3. Differenzierungsmerkmale und Methoden der Differenzierung	14
4. Gattungsbeschreibungen	22
a) Gattung Aspergillus	22
b) Gattung Penicillium	25
c) Gattung Mucor	26
d) Gattung Absidia	26
e) Gattung Geotrichum	27
5. Methoden der quantitativen Bestimmungen von Schimmelpilzen	28
II. 1. Vorkommen von Schimmelpilzen in dem Magen- Darmtrakt und den Faeces von Haustieren	37
2. Herkunft der Schimmelpilze, die im Magen- Darmtrakt und den Faeces der Haustiere anzu- treffen sind	48
a) Schimmelpilze im Futter	48
b) Schimmelpilze in der Stallluft	53

	<u>Seite</u>
C. <u>Eigene Untersuchungen</u>	56
I. Material	56
II. Methodik	57
1. Kultivierung und Isolierung der Schimmelpilze	57
2. Differenzierung der Schimmelpilze	60
3. Bestimmung des Trockengewichts von Kot	61
III. Ergebnisse	63
1. Gesamtzahl der Schimmelpilze und Aufteilung nach Gattungen	63
a) Schwein	64
b) Rind	72
2. Differenzierung der Gattung Aspergillus nach Gruppen und Arten	84
a) Schwein	84
b) Rind	92
D. <u>Besprechung der Ergebnisse und Diskussion</u>	101
E. <u>Zusammenfassung</u>	118
F. <u>Literaturverzeichnis</u>	120
G. <u>Lebenslauf</u>	132

A. Einleitung

Zu den Aufgaben der Nahrungsmittel- und Ernährungsforschung gehört es, Art, Menge und Wirkungsweise primär vorhandener oder sekundär zu den Nahrungsmitteln hinzukommender oder in ihnen entstehender Bestandteile kennenzulernen (GOLDBACH 1968). In diesen Forschungsbereich gehört auch die Beeinflussung der Nahrungsmittel und damit der Ernährung durch Mikroben. Das Studium dieser Beeinflussung hat schließlich das Ziel, die mikrobiologische Qualität der Nahrungsmittel in die Hand zu bekommen, sie also zu beherrschen, da durch derartige Beeinflussungen beim Lebensmittelverbraucher nicht nur Erkrankungen auftreten können, sondern auch die technologische Qualität, wie Nährwert, Haltbarkeit, Geschmack oder Farbe der Nahrungsmittel, unerwünscht beeinflusst werden können (MOSSEL 1970).

Zu dem Bereich der Mikroben, die für Nahrungsmittel und damit für die Ernährung des Menschen eine Rolle spielen, gehören die Schimmelpilze, denen in der neueren Zeit aus verschiedenen Gründen erhöhte Aufmerksamkeit zugewendet wird. Schimmelpilze kommen in der Natur überall vor. Von ihnen sind einige in der Lage, Krankheiten zu verursachen, andere haben Eigenschaften, die für die Heilung von Krankheiten nutzbar gemacht werden können (PELCZAR und REID 1958). Auf Grund ihrer besonderen Eigenschaften können sie rein wirtschaftlich gesehen zum Teil als nützlich, zum Teil als schädlich betrachtet werden. Auf dem Fleischsektor verursachen sie z.B. wirtschaftliche Schäden durch die Einleitung eines Lebensmittelverderbs, darüber hinaus können durch sie auch nachteilige Beeinflussungen der Gesundheit des Lebensmittelverbrauchers nicht ausgeschlossen werden (FRAZIER 1967; MÜLLER 1970; PELCZAR und REID 1958).

Fleisch und daraus hergestellte Erzeugnisse sind in der Regel gute Nährmedien für Schimmelpilze. Eine Verschimmelung von Fleischerzeugnissen in der verschiedensten Form und innerhalb verschiedener Stadien, zum Teil in der Literatur auch als "Beschlagen" oder "Be-

reifen" bezeichnet, taucht immer wieder auf (LERCHE / GOERTTLER / RIEVEL 1957; HADLOK 1969a, 1970, 1971; LEISTNER et al. 1965, 1967; WUNDRAM / SCHÖNBERG 1962). Dabei ist in der neueren Zeit klar-gestellt worden, daß die bei Fleisch und daraus hergestellten Erzeugnissen vorherrschende Flora vordergründig durch die Gattung *Penicillium* und *Aspergillus* repräsentiert wird (HADLOK 1969a, 1970, 1971; LEISTNER et al. 1965, 1967).

Um gesundheitliche Schäden des Fleischverbrauchers zu vermeiden und wirtschaftlich bedeutungsvollen Verderb von Nahrungsmitteln vorzubeugen, gehört es zu den vorrangigen Aufgaben der Lebens-mittelhygiene, wirksame und wissenschaftlich fundierte Hygiene-maßnahmen zur Anwendung zu bringen. Voraussetzung dafür ist es u.a., die wesentlichen Kontaminationsquellen zu erkennen. Als Kontaminationsquellen spielen zunächst naturbelassene Gewürze eine wesentliche Rolle (HADLOK 1969b). Es ist auch bekannt, daß der Inhalt des Verdauungstraktes der Schlachttiere eine Konta-minationsquelle darstellen kann (LERCHE / GOERTTLER / RIEVEL 1957; BARTELS, HADLOK und KÄFERSTEIN 1964). Wenn auch in den dies-bezüglichen fleischhygienerechtlichen Vorschriften in der Bundes-republik Deutschland und darüber hinaus zumindest zum Teil auch im internationalen Bereich der Tatsache bereits Rechnung getragen wird, daß der Magen-Darm-Kanal und sein Inhalt ins-besondere im Rahmen des Schlachtgeschehens besonderer hygienischer Beachtung bedürfen, bleiben dennoch Kontaminationsmöglichkeiten zwischen Magen-Darm-Inhalt und Fleisch bestehen, die auch für die Übertragung von Schimmelpilzen auf das Fleisch von Bedeutung sein können.

Wenn so auch ganz allgemein die Tatsache bekannt ist, daß die Faeces der Schlachttiere auch für die Übertragung von Schimmel-pilzen eine nicht zu unterschätzende Rolle spielen, liegen zu der speziellen Frage, welche Pilzgattungen und Pilzarten in den Faeces vorkommen sowie zu der Frage, in welchen Mengen sie darin

vorhanden sind, bisher nur unzureichende Informationen vor. Aus diesem Grund wurde mir vom Direktor des Instituts für Tierärztliche Nahrungsmittelkunde, Herrn Professor Dr. Bartels, in Zusammenarbeit mit Herrn Akad. Oberrat Dr. Hadlok die Aufgabe gestellt, quantitative und qualitative Untersuchungen durchzuführen, um diesbezügliche Aussagen über die Schimmelpilzflora der Faeces von Schlachtrindern und Schlachtschweinen zu machen. Dabei sollte den Gattungen *Penicillium* und *Aspergillus* und anderen möglicherweise im Kot häufig vorkommenden Schimmelpilzen erhöhte Aufmerksamkeit gewidmet werden. Da Schimmelpilze der Gattung *Aspergillus* hinsichtlich ihrer Fähigkeit, Mycotoxine zu bilden, von besonderem Interesse sind, sollten die zu dieser Gattung gehörenden Schimmelpilze auch auf die Artzugehörigkeit untersucht werden.

B. Schrifttum

I. 1. Definition des Begriffes Schimmelpilze und Stellung der Schimmelpilze in der mykologischen Systematik

Als Schimmelpilze werden eine Reihe zu verschiedenen Klassen gehörige Pilze mit einem charakteristischen Wachstum bezeichnet. Sie wachsen als farbige, fädige, watte-, samt- oder staub-ähnliche Überzüge auf organischen Stoffen (FRAZIER 1967). Die Bezeichnung "Schimmelpilze" ist kein systematischer Begriff, sondern ein Trivialname (GOLDBACH 1968). Der Begriff "Schimmel" bedeutet etwas weißlich Schimmerndes (GOLDBACH 1968), läßt sich bis ins Althochdeutsche zurück nachweisen und läßt sich nach dem Etymologie - Duden auf die althochdeutschen Wörter "scime" = Glanz und "scimbalon" = schimmel zurückführen (Duden, Etymologie 1963). Da dieser "Schimmel" der Pilzkulturen in seiner morphologischen Ausprägung keine Aussage über die verwandtschaftlichen Beziehungen von Schimmelpilzen untereinander zuläßt und auch aus verschiedenen Pilzteilen wie Rasen steriler Hyphen, Überzug fruktifizierender Konidienträger und Perithezien gebildet werden kann, handelt es sich bei den Schimmelpilzen um keine im biologischen Sinne systematisch definierte Gruppe (LOEFFLER 1965).

Die Schimmelpilze gehören vornehmlich zu den Pilzen der Klasse Zygomycetes (wie die Familie Mucoraceae) sowie zu der Klasse Deuteromycetes (wie die Familien Dematiaceae und Moniliaceae).

Die Pilze selbst gehören zu den heterotrophen Thallophyten (Kryptogamen), da sie kein differenziertes Gewebe wie Wurzel, Stamm oder Blätter bilden, sondern nur einen Thallus, zusammengesetzt aus feinen, im Mikroskop erkennbaren Fäden, den Hyphen, und für ihr Wachstum auf organische Stoffe angewiesen sind (v. ARX 1967). Von den Schizomyceten (Spaltpilze oder Bakterien) unterscheiden sie sich im Zellaufbau. Sie besitzen vor allem einen oder mehrere Zellkerne, die von einer Membran umgeben sind und einen Nucleolus

besitzen (v. ARX 1967, BESSEY 1965), d.h. sie sind eukaryotisch, die Bakterien prokaryotisch (MÜLLER 1970). Von den meisten anderen Kryptogamen unterscheiden sich die Pilze durch das Fehlen von Chlorophyll (v. ARX 1967, BESSEY 1965). Der Großteil aller Pilze ist bei auf der Grundlage von morphologischen und biochemischen Merkmalen geschaffenen Abteilungen in der Abteilung der echten Pilze, Eumycota (true fungi) anzutreffen (v. ARX 1967). Bei den echten Pilzen besteht der Thallus aus Hyphen oder Sproßzellen, deren Wände meist Chitin, nicht jedoch Zellulose, enthalten. Es fehlen die beweglichen Sporen (Planosporen), während die unbeweglichen Sporen (Aplanosporen) sehr verschiedenartig sind. Gametangien- oder Hyphenverschmelzungen leiten meist die Diplo- oder Dikaryophase ein (v. ARX 1967). In die Abteilung Eumycota gehören, unterteilt vornehmlich auf der Grundlage der Form der geschlechtlichen Vermehrung, die Klasse der Zygomycetes, Ascomycetes, Basidiomycetes und der Deuteromycetes (Fungi imperfecti), wobei in der letztgenannten Klasse bei der Einteilung in Gattungen und Arten vor allem die verschiedenen ungeschlechtlichen (vegetativ) erzeugten Sporenarten eine bedeutende Rolle spielen, da von sehr vielen die geschlechtliche Hauptfruchtform noch nicht bekannt ist (v. ARX 1967, BESSEY 1965, FUNDER 1961).

Die systematische Stellung der meisten Schimmelpilze nach v. ARX 1967 ist in der Tabelle 1 wiedergegeben. Ergänzend sind hinter den Gattungsnamen in Klammern die Gattungsnamen der dazu bekannten perfekten Pilzstadien aufgeführt, welche zur Klasse der Schlauchpilze= Ascomycetes gehören.

Tabelle 1: Systematische Stellung der Schimmelpilze

<u>Abteilung:</u>		Eumycota (Echte Pilze)			
<u>Klasse:</u>		Zygomycetes	Ascomycetes	Basidiomycetes	Deuteromycetes (Fungi imperfecti)
<u>Reihe:</u>		Mucorales			Moniliales
<u>Familie:</u>		Mucoraceae		Dematiaceae	Moniliaceae
<u>Gattung:</u>		Mucor Absidia Rhizopus Thamnidium		Cladosporium (Mycosphaerella) Sporendonema	Penicillium (Eupenicillium, Talaromyces) Aspergillus (Eurotium, Emericella, Sartorya, Hemicarpaceles) Paecilomyces (Byssoschlamys) Trichothecium Geotrichum

2. Vorkommen, Wachstum und kulturelle Züchtung von Pilzen

Die echten Pilze sind ubiquitär verbreitet.

Ihre Propagation erfolgt durch Sporen, die in größerer Zahl erzeugt werden. Es können sowohl geschlechtliche als auch ungeschlechtliche Sporen nebeneinander gebildet werden. Bei sehr vielen Fungi imperfecti ist die geschlechtliche Hauptfruchtform zum großen Teil noch nicht bekannt. Daneben kennt man sterile Formen, denen jede Sporenbildung fehlt (v. ARX 1967). Über die Luft, flüssige Medien und andere Überträgerstoffe werden die kleinen, zum Teil sehr widerstandsfähigen Sporen und Hyphenelemente weit verbreitet und finden bei günstigen Umweltbedingungen auf einer Vielzahl von organischen Materialien einen Nährboden zum Auswachsen. Zahlreiche Schimmelpilze bevorzugen ein leicht saures Medium, viele Pilze benötigen für ihr Wachstum relativ hohe Konzentrationen an Zucker, eine Tatsache, die neben der Einstellung eines sauren pH-Wertes zur Ausschaltung von Bakterien auf Pilznährböden ausgenutzt wird (RAPER und THOM 1949, PELCZAR und REID 1958, RAPER und FENNEL 1965). Der Temperaturbereich, bei dem das Pilzwachstum vorkommt, reicht im Wesentlichen von $+5^{\circ}\text{C}$ bis $+37^{\circ}\text{C}$, wobei als optimale Temperatur $+25^{\circ}\text{C}$ bis $+30^{\circ}\text{C}$ gelten. Darüber hinaus gibt es einzelne thermophile Pilze sowie solche, die noch bei Temperaturen unter $+0^{\circ}\text{C}$ wachsen und deren Wachstum erst bei -10°C unterdrückt wird, da erst dann der Hypheninhalt erstarrt (MÜLLER 1950, FRAZIER 1967). MONVOISIN 1918 und EMPEY und SCOTT 1939 berichten über eine ganze Reihe von Pilzen, die sie von Gefrierfleisch isolierten und deren Hauptvertreter Cladosporium, Mucor, Rhizopus, Thamnidium, Alternaria Species waren. EMPEY und SCOTT 1939 fanden auch, daß Hefen und Pilze im Verhältnis zu den Bakterien mehr bei -1°C als bei $+20^{\circ}\text{C}$ im Fleisch vorhanden waren. Pilze wachsen bei aeroben Verhältnissen (FRAZIER 1967), aber es gibt auch anaerobe Vertreter (MÜLLER 1950). Im allgemeinen benötigen

Pilze weniger Feuchtigkeit zum Wachsen als beispielsweise die Hefen und Bakterien, dennoch ist eine Wasseraktivität von mindestens 0,62 Voraussetzung für das Wachstum (FRAZIER 1967, GOLDBACH 1968). Die Luftfeuchtigkeit ist von weniger entscheidender Bedeutung (FRAZIER 1967, RAPER und THOM 1949).

Für die Züchtung von Schimmelpilzen kommen die meisten Bakteriennährböden, besonders solche mit schwach saurer Reaktion, in Betracht. Viele Pilze lassen sich in flüssigen wie in festen Nährmedien unter sterilen Bedingungen züchten (PELCZAR und REID 1958). Man kann zunächst nach PELCZAR und REID 1958 drei Arten von Medien unterscheiden.

1. Die Gruppe der natürlichen Medien, welche aus Teilen oder Aufgüssen von Früchten, Gemüse oder vom Tier stammenden Gewebe bestehen. Ihre Zusammensetzung variiert stark, und sie ermöglicht kaum Vergleiche, so daß sie heute wenig Anwendung findet.
2. Die Gruppe der Kulturmedien, die aus Peptonen, Pflanzenextrakten, Agar und anderen Bestandteilen von unbekannter oder uneinheitlicher Zusammensetzung bestehen.
3. Die Gruppe von Medien, die exakt zu jeder Zeit mit gleicher Zusammensetzung wieder hergestellt werden können. Dazu gehören aus reinen Chemikalien hergestellte synthetische Medien.

Praktisch in Gebrauch sind heute je nach Arbeitsziel die verschiedensten Medien, die sich entweder direkt oder in Kombinationen in die genannten drei Gruppen einfügen lassen. Eines der bekanntesten und ältesten Medien für Pilze ist der Sabouraud-Agar, welcher ursprünglich hauptsächlich Maltose und Pepton enthielt und heute in verschiedenen Abwandlungen zur Anwendung kommt (PELCZAR und REID 1958).

Der Anfang dieses Jahrhunderts von CZAPEK und DOX entwickelte CZAPEK (-Dox)-Agar wird heute zum Züchten und Bestimmen von vielen Pilzen, besonders der der Gattung *Penicillium* und

Aspergillus, verwendet, und in wesentlichen Bestimmungsbüchern sind vergleichende Beschreibungen von Pilzen auf dieser Basis zu finden (RAPER und THOM 1949, RAPER und FENNELL 1965).

Das CZAPEK (-Dox)-Medium setzt sich wie folgt zusammen (RAPER und FENNELL 1965):

Wasser	1 000 ml
NaNO ₃	3,0 g
K ₂ HPO ₄	1,0 g
MgSO ₄ . 7 H ₂ O	0,5 g
KCl	0,5 g
FeSO ₄ . 7 H ₂ O	0,01 g
Saccharose	30,0 g
(Würfel od. and. Handelsware)	
Agar	15,0 g

Um die Auskristallisation des Zuckers so gering wie möglich zu halten, wird dieser erst kurz vor der abschließenden Sterilisation hinzugefügt. Häufig wird von dieser Grundrezeptur abgesehen und zwar durch mengenmäßige Änderung irgendeiner der Bestandteile (z.B. der Saccharose), durch Austausch einer der Substanzen oder durch Zusatz von anderen Stoffen.

Ein weiterer heute vielfach gebrauchter Nährboden ist der ursprünglich von Blakeslee 1915 empfohlene Maltextrakt-Agar von folgender Zusammensetzung:

Destilliertes Wasser	1 000,0 ml
Maltextrakt	20,0 g
Pepton	1,0 g
Dextrose	20,0 g
Agar	20,0 g

Er ist für diagnostische Zwecke nicht in dem Umfang wie der Czapek (-Dox)-Agar geeignet, da einige Pilzarten auf diesem Nährmedium ein weniger charakteristisches Wachstum zeigen, zeichnet sich aber durch günstige Wachstumsbedingungen für viele Pilze aus (RAPER und FENNELL 1965).

3. Differenzierungsmerkmale und Methoden der Differenzierung

Voraussetzung für die Pilzdifferenzierung ist die Reinzüchtung eines Pilzes auf definierten Nährmedien unter definierten Bedingungen, die einem geeigneten Bestimmungsschlüssel zu Grunde liegen, da Pilze bei unterschiedlichen Bedingungen völlig anders wachsen können. Die Nichtbeachtung dieser Voraussetzung hat oft zu falschen Differenzierungen und zur Beschreibung angeblich neuer Pilzarten geführt, so daß es nicht immer leicht ist, sich in der Vielzahl von als synonym geltenden Arten zurechtzufinden (RAPER und THOM 1949).

Nach v. ARX 1967 basiert die Bestimmung von Pilzen hauptsächlich auf den morphologischen Merkmalen. Nach BESSEY 1965 und FRAZIER 1967 lassen sich bei den Pilzen ein vegetativer und ein reproduktiver Anteil unterscheiden. Ersterer setzt sich zusammen aus dem Mycel, gebildet aus einzelnen Hyphen. Diese Hyphen können ein verzweigtes und unverzweigtes Geflecht bilden, wobei es sich aus Teilstücken mit und ohne Querwänden zusammensetzen kann, die glatte oder rauhe, dicke oder dünne Wände haben können und die von unterschiedlichem Durchmesser sein können. Das Ausmaß des Mycelwachstums variiert und zeigt ein charakteristisches Aussehen je nach Art, ist aber stark abhängig von äußeren Faktoren. Das Mycel kann teils in dem, teils auf dem Substrat wachsen. Pilzmycel kann wieder in einzelne Hyphen oder unregelmäßige Mycelstücke zerfallen, und neues Pilzwachstum kann von solchen Stücken ausgehen (FRAZIER 1967). Doch geschieht die Verbreitung der Pilze hauptsächlich mittels Sporen, die geschlechtlich oder ungeschlechtlich entstehen können. Hyphen sind einzuteilen in vegetative, die für die Ernährung der Pilze sorgen, und solche, die zur Bildung von Teilen für die Reproduktion bestimmt sind (BESSEY 1965 und FRAZIER 1967). Daneben gibt es noch bei einigen Pilzarten die Bildung von Sklerotien, die eine hohe Resistenz gegen Hitze und andere Faktoren besitzen und als eine dichte Masse von Hyphen anzusehen sind (BESSEY 1965 und FRAZIER 1967).

Ein wichtiges Untersuchungsmerkmal für die Bestimmung der Pilze ist die Art der Sporen und die Art und Weise ihrer Entstehung, die auch als Grundlage für die Einteilung in Klassen verwendet wird. Es gibt folgende 4 Arten von ungeschlechtlichen Sporen: Die Konidiosporen werden offen getragen und produziert auf besonders fruchtbaren Hyphen, den Konidiophoren. Im Gegensatz dazu werden die Sporangiosporen innerhalb von Sporangien getragen, welche am Ende von fruchtbaren Hyphen, den Sporangiphoren, sitzen. Die Arthrosporen oder Oidiosporen entstehen durch Hyphenumbildung. Daneben gibt es noch als weitere Form die Chlamydosporen, bei denen es sich um vergrößerte, abgerundete, dickwandige Zellen handelt. Sie entstehen end- oder mittelständig aus Hyphen. Weitere Merkmale für die Bestimmung von Pilzen, z.B. der Klasse Zygomycetes sind Größe, Form, Farbe und Lokalisation der Sporangien, die auf einer verzweigten oder unverzweigten Sporangiphore sitzen. Diese kann an ihrem Ende als Columella ausgebildet sein. Auch ist die Anordnung der Konidien, ob z.B. einzeln oder verschieden dicht in Reihen, von diagnostischer Wichtigkeit.

Weiterhin gibt es ebenfalls 4 Formen von geschlechtlichen Sporen: Die Oosporen der Oomyceten, die durch Vereinigung von kleinen männlichen und großen weiblichen Gameten entstehen, und die Zygosporien, die als Dauersporien sehr resistent sind, und in der Klasse der Zygomyceten durch Vereinigung zweier Hyphenspitzen (Suspensoren) entstehen. Die Ascomyceten oder Schlauchpilze bilden nach Vereinigung von zwei Zellen vom gleichen oder verschiedenen Mycel die Ascosporen, die nach der Konjugation durch Zellteilung in Gruppen zu meist 8 Stück in einem speziellen Fruchtkörper, dem Ascus, liegen. Die Asci können allein vorkommen oder in größerer Zahl innerhalb von einem Ascocarp eingeschlossen liegen. Bei den Basidiomyceten entstehen die Basidiosporen nach Verschmelzung von zwei Hyphen exogen auf besonders ausgebildeten Basidien (AINSWORTH 1961, v. ARX 1967, BESSEY 1965, FRAZIER 1967).

Auch sind noch biochemische Merkmale (v. ARX 1967) zur Differenzierung von Bedeutung, und nach SCHIPPER 1969 kommt bei der Differenzierung von der Gattung *Mucor* die "mating"-Methode hinzu, die auf einer möglichen geschlechtlichen Verschmelzung eines bekannten mit einem unbekannten Stamm mit Zygotenbildung beruht.

Für die mikroskopische Darstellung der zur Pilzdifferenzierung erforderlichen Pilzelemente werden nach v. ARX 1967 Präparate auf folgende Weise angefertigt: Mit Hilfe feiner Nadeln oder eines Stilettmesserchens wird Kulturmateriel (Mycel, Sporen und Fruchtkörper) auf einen Objektträger gebracht. Auf dieses Kulturmateriel wird ein Tropfen Wasser (*Zygomycetes*) bzw. ein Tropfen 70 %igen Alkohols (*Aspergillus*, *Penicillium*) gegeben. Als Einschlußmittel eignet sich Lactophenol (10 g Phenol, 20 g Milchsäure, 20 g Glycerin, 10 g Wasser), das den Vorteil hat, daß die Präparate anfärbbar sind, z.B. mit Baumwollblau oder Trypanblau, und längere Zeit aufzubewahren sind. Wasser ist zwar kontrastreicher, aber verdunstet schneller. Mittels zweier Nadeln kann man einzelne Pilzteile noch freipräparieren und dann mit einem Deckgläschen abdecken. Danach lassen sich in dem so angefertigten Präparat die Strukturen der einzelnen Pilzteile unter dem Mikroskop bei starkem Trockensystem und / oder mit Ölimmersion beobachten, beschreiben und mit Hilfe eines Meßokulars vermessen.

Dabei kommt es darauf an, daß sich die Beschreibung, die der Bestimmung der Pilzarten zu Grunde gelegt wird, auf eine große Zahl von beobachteten und gemessenen Pilzteilen stützt (RAPER und FENNELL 1965 und RAPER und THOM 1949).

In optimaler Weise lassen sich die Pilzelemente in einer Vielzahl mit der von RIDDELL 1950 erarbeiteten und beschriebenen Methode darstellen. Das Anlegen von Objektträgerkulturen geschieht nach RIDDELL wie folgt:

Zur Gewinnung kleiner etwa 1 cm^2 großer und 2 mm tiefer Agarstückchen, die auf einen sterilen Objektträger verbracht den Nährboden für die Pilzkulturen bilden, werden 10 ml eines geeigneten verflüssigten Nährbodens in eine sterile Petrischale (9 cm Durchmesser) gegeben und nach dem Erstarren im Kühlschrank mit Glasstab und Präpariernadel in geeignete Stückchen zerschnitten. Ein 1 cm^2 großes Agarstückchen wird auf einen abgeflamten Objektträger gelegt, der unter dem Deckel einer sterilen von innen abgeflamten Petrischale aufbewahrt wurde. Ein abgeflammtes Deckgläschen wird vorher so auf der einen Seite des Objektträgers bereitgelegt, daß es an einer Ecke überlappt und jederzeit schnell entnommen werden kann. Alle Arbeitsgänge sind zügig mit sterilen Instrumenten durchzuführen, damit es möglichst zu einer nur geringen Kontamination von außen kommt. Es erfolgt die Beimpfung des Nährbodenstückes durch Setzen eines Nadelspitzeninokulums (Sporen oder Mycel) ins Zentrum jeder Ecke des Agarblockes über die ganze Tiefe des Nährbodens. Nach Abdecken des Agarstückes mit dem bereitliegenden Deckgläschen wird der Objektträger in einer feuchten Kammer auf Glasstäbe gelegt. Die feuchte Kammer erhält man durch Einlage von Saugpapier, das mit 20% Glycerol im Wasser angefeuchtet worden ist, in eine geeignete Kammer, die dann mit Glasplatte und Vaseline so verschlossen wird, daß das Agarstückchen nicht austrocknen kann. Bis zum Eintritt einer übermäßigen Sporulation (mikroskopische Kontrolle) muß der Objektträger in der Kammer verbleiben, und das Deckgläschen darf während des Pilzwachstums nicht bewegt werden. Nach Eintritt einer ausreichenden Sporulation wird das Deckgläschen vertikal mit einer Pinzette entfernt und mit der Kehrseite nach oben abgelegt. Es folgt das vorsichtige Entfernen des Agarstückchens mit Hilfe einer platten Öse. Darauf wird ein Tropfen Äthyl-Alkohol in die Mitte des Wachstumsringes verbracht, so daß beim Nach-Außen-Fließen der Flüssigkeit das Pilzmycel befeuchtet wird. Kurz vor Ende des Verdampfens des Alkohols wird ein Tropfen Lactophenolblau auf den Objektträger in die Mitte des Wachstumsringes gebracht. Lactophenolblau wird hergestellt, indem 20 g Phenolkristalle

gelöst werden durch vorsichtiges Erhitzen in 20 ml Milchsäure, 40 ml Glycerol und 20 ml destilliertem Wasser und darauf 0,05 g Methylblau zugesetzt werden. Ein sauberes Deckgläschen wird dann auf den Tropfen herabgelassen, so daß die Flüssigkeit an den Kanten hervortritt. Es erfolgt die gleiche Behandlung der Deckglaskultur, welche danach mit einem Objektträger abgedeckt und dann herumgedreht wird. Auf diese Weise entstehen jeweils zwei Präparate von jeder Objektträgerkultur. Die Präparate werden so über eine Nacht liegengelassen und am Morgen dann mit Löschpapier von ausgetretender Flüssigkeit befreit. Darauf werden beginnend an den Ecken die Deckglasränder mit Nagellack abgedichtet und nach dem Antrocknen eventuell mit einer Rasierklinge geglättet.

Ein Austrocknen der Objektträgerkulturen wird in Abwandlung dieser Methode nach REINDERS dann verhindert, wenn die Deckglasränder nach dem Entfernen der ausgetretenen Flüssigkeit zunächst mit Glycerin - Gelatine (Herstellung : 1 g Gelatine und 6 ml Aqua dest. - 2 Std. weichen lassen - Zugabe von 7 g Glycerin + 1 % Phenol - 10 bis 15 Min. unter ständigem Rühren erhitzen, bis keine Flocken mehr vorhanden sind und dann durch feine, mit dest. Wasser ausgewaschene und noch feuchte Glaswolle filtrieren) abgedichtet werden. Die Glycerin-Gelatine soll 24 Std. trocknen, bevor die weitere Abdichtung mit Nagellack erfolgt.

Mittels dieser Methode nach RIDDELL ist es möglich, Oberflächenmycel, Basalmycel sowie andere morphologische Merkmale einer Pilzart in situ mit Hilfe des Mikroskopes zu beobachten. Die Merkmale lassen sich in dauerhaft gefärbten Präparaten darstellen.

Die ermittelten Charakteristika der Pilzstämme werden in Datentabellen, wie sie in speziellen Bestimmungsbüchern angegeben werden, zusammengestellt. Dies sind für die Gattung *Aspergillus* die Datentabelle von RAPER und FENNELL 1965 (vergleiche Tabelle 2 - ins Deutsche übertragen), für die Gattung *Penicillium*, die von RAPER und THOM 1949 und für die Familie *Mucoraceae*, die von HADLOK 1968. Letztere wird in Tabelle 3 wiedergegeben, da eine Veröffentlichung bisher nicht erfolgte.

Tabelle 2: Datentabelle / Gattung Aspergillus

1. Nummer oder Bezeichnung:	38.	Konidiophore
2. Herkunft:	39.	Länge:
3. Medium:	40.	Durchmesser:
4. Temperatur:	41.	Wandcharakter:
5. Licht:	42.	Konidien
6. Alter:	43.	Ausmaße:
7. Koloniecharakteristik	44.	Wandcharakter:
8. Wachstumsgrad:	45.	Farbe:
9. Wachstumsmuster	46.	Hüllezellen oder andere
10. Farbe und Struktur:		Hyphenelemente
11. Basalmycel:	47.	Gestalt:
12. Oberflächenmycel:	48.	Ausmaße:
13. Relative Menge und Anordnung der	49.	Sklerotien oder Sklerotien ähnliche Strukturen
14. Köpfe:	50.	Form und Aufbau:
15. Sclerotia:	51.	Ausmaße:
16. Cleistothecia:	52.	Farbe:
17. Farbe der Rückseite:	53.	Askosporenausbildung
18. Conidienstatus	54.	Cleistothecia:
19. Köpfe:	55.	Ursprung:
20. Entstehungsart:	56.	Form und Aufbau:
21. Farbe:	57.	Vorliegende Menge:
22. Form:	58.	Ausmaß:
23. Gesamtausmaße:	59.	Farbe:
24. Vesikel	60.	Asci
25. Form:	61.	Gestalt:
26. Ausmaße:	62.	Ausmaße:
27. Farbe:	63.	Ascosporen
28. Fruchtzone:	64.	Muster:
29. Sterigmen	65.	Ausmaße:
30. Entwicklung:	66.	Farbe:
31. Anordnung: einfach und zweifach	67.	Diagnose
		Gruppe:
32. Primärsterigmen		Serie:
33. Ausmaße:		Art:
34. Farbe:		
35. Sekundärsterigmen (Phialiden)		
36. Ausmaße:		
37. Farbe:		

Tabelle 3: Datentabelle / Familie Mucoraceae

- | | |
|----------------------|---------------------|
| 1. Stamm: | 2. Herkunft: |
| 3. Medium: | 4. Temperatur: |
| 5. Alter: | |
| 6. Kolonie | |
| Wachstumsgrad | |
| Durchmesser: | Höhe: |
| Wachstumsmuster | |
| Farbe der Kolonie: | |
| Farbe der Rückseite: | |
| Struktur: | |
| Geruch: | |
| 7. Sporangiphore | |
| Entstehung: | |
| Farbe: | |
| Verzweigung: | |
| Wandbeschaffenheit: | |
| Septierung: | |
| Länge: | Durchmesser: |
| 8. Stolon | |
| Wandbeschaffenheit: | Durchmesser: |
| 9. Sporangia | |
| Farbe: | Durchmesser: |
| Form: | Wandbeschaffenheit: |
| 10. Columella | |
| Form: | Wandbeschaffenheit: |
| Farbe: | Kragen: |
| Apophyse: | Durchmesser: |
| 11. Sporangiospore | |
| Farbe: | Form: |
| Inhalt: | Wandbeschaffenheit: |
| Maße: | |
| 12. Chlamydospore | |
| Länge: | Form: |
| Durchmesser: | |
| 13. Zygospor | Farbe: |
| Wandbeschaffenheit | Form: |
| | Durchmesser: |
| 14. Suspensor | |
| Farbe: | Wandbeschaffenheit: |
| 15. Zygophore | |
| Wandbeschaffenheit: | Durchmesser: |
| 16. Riesenzelle | |
| 17. Diagnose | |
| Gattung: | Art: |

Die Bestimmung der Pilze erfolgt dann mit Hilfe von Gattungsschlüsseln, wie sie in der Pilzkunde von v. ARX 1967 für in Reinkultur wachsende und sporenbildende Pilze angegeben sind. Ausgehend von der so erhaltenen Gattungsdiagnose müssen weitere Spezialwerke und -arbeiten zur Differenzierung herangezogen werden. Es handelt sich dabei vor allem um die folgende Literatur, Gattung *Penicillium*: RAPER und THOM 1949; Gattung *Aspergillus*: RAPER und FENNELL 1965; Familie *Mucoraceae*: ZYCHA 1935, HESSELTINE 1955, 1964, HESSELTINE und ANDERSON 1957, 1964, HESSELTINE und ELLIS 1964, 1966; Gattung *Geotrichum*: MORENZ 1964; Gattung *Cladosporium*: De VRIES 1952; Gattung *Paecilomyces*: BROWN und SMITH 1957; Gattung *Trichothecium*: RIFAL und COOKE 1966.

4. Gattungsbeschreibungen

a) Gattung Aspergillus

Die wegen ihrer Bedeutung bei Fleisch und Fleischerzeugnissen (LEISTNER et al. 1965, 1967; HADLOK 1969a, 1971) in den eigenen Untersuchungen bis zur Art bestimmten Stämme der Gattung *Aspergillus* gehören nach v. ARX 1967 nicht einer einzigen Gattung an, sondern sie gehören entsprechend der Nomenklaturregeln zum Teil zu der Klasse der Fungi imperfecti, zum Teil zu der Klasse der Ascomyceten. Das beruht auf der Tatsache, daß nur bei den Gattungen *Eurotium* Link, *Emericella* Berkeley, *Sartorya* Vuillemin und *Hemicarpaceles* Sorbhoy et Elphick neben der imperfekten oder asexuellen Fruchtform die perfekte Form der Fortpflanzung durch Bildung von Ascosporen bekannt ist, während man von den meisten Vertretern der Gattung *Aspergillus* nur die imperfekte Fruchtform kennt. Es muß angenommen werden, daß ein großer Teil jedoch eine sexuelle Fruchtform besitzt und daß es nur noch nicht gelungen ist, diese nachzuweisen (BESSEY 1965). RAPER und FENNELL 1965 legen jedoch ihrer Gattungsdiagnose die asexuelle Fruchtform zu Grunde und zählen alle diese Pilze zur Imperfektengattung *Aspergillus* Michel ex Fries. Bei allen Vertretern dieser Gattung sitzen nach RAPER und FENNELL 1965 und v. ARX 1967 auf einem mehr oder weniger großen Teil des Vesikels, einer Endanschwellung der Konidio-phore, die fruchtbaren Zellen oder Phialiden. Die nacheinander aus den oben offenen Phialiden austretenden Sporen oder Konidien bilden unverzweigte Ketten, die so dicht nebeneinander liegen, daß sie dem Aspergillenköpfchen die kugelige oder kolumnenförmige Form geben. Neben der Ausbildung nur einer Reihe von Phialiden auf den Vesikeln, von denen dann die Sporenketten ausgehen, gibt es auch Pilze mit noch einer Reihe von Trägern, Sterigmen oder auch Metulae genannt, zwischen Vesikel und Phialiden. Sie erscheinen "zweireihig", da die Phialiden mit ihren Sporenketten von den Sterigmen getragen werden (v. ARX 1967;

RAPER und FENNELL 1965)- siehe Abb. 1. Die die Köpfchen tragenden Konidiophoren können septiert oder unseptiert sein und nehmen ihren Ursprung von besonders spezialisierten Zellen, den sogenannten Fußzellen, wobei sie sich beinahe senkrecht zu diesen entwickeln und so die Köpfchen über die Oberfläche des Grundmycels hervorragen lassen. Das aus einzelnen septierten Hyphen gebildete verzweigte Mycel kann eine nach Pilzart recht unterschiedliche Anordnung, Farbe und Dicke besitzen. Auch die Form, Größe, Anordnung, Unterteilung, Beschaffenheit, Farbe sowie die Ausbildung der anderen bereits beschriebenen Teile variiert stark bei den einzelnen Vertretern und ist teils auch vom Nährboden und anderen äußeren Bedingungen abhängig. Letzteres trifft besonders auf die bei einigen Arten regelmäßig, bei anderen Arten nur mehr oder weniger selten oder gar nicht anzutreffenden, meist kugeligen Sklerotien oder Pseudosklerotien zu. Nur bei den Arten mit Ausbildung der geschlechtlichen Fortpflanzung findet man die Ascocarpe, bestehend aus Asci und Ascosporen, meist als spezifisch gebaute und gefärbte Cleistothecien und nur selten innerhalb dickwandiger Sklerotien.

Die Gattung *Aspergillus* ist in 18 Gruppen unterteilt, in denen jeweils verschiedene Species zusammengefaßt sind, die eine Reihe von Charakteristika gemeinsam haben. Eine Gruppe kann nur eine Species (*A. candidus*) oder die Species zusätzlich nach Serien geordnet (*A. fumigatus*, *A. versicolor*) enthalten.

Bisher wurden etwa 140 *Aspergillus*-Species beschrieben.

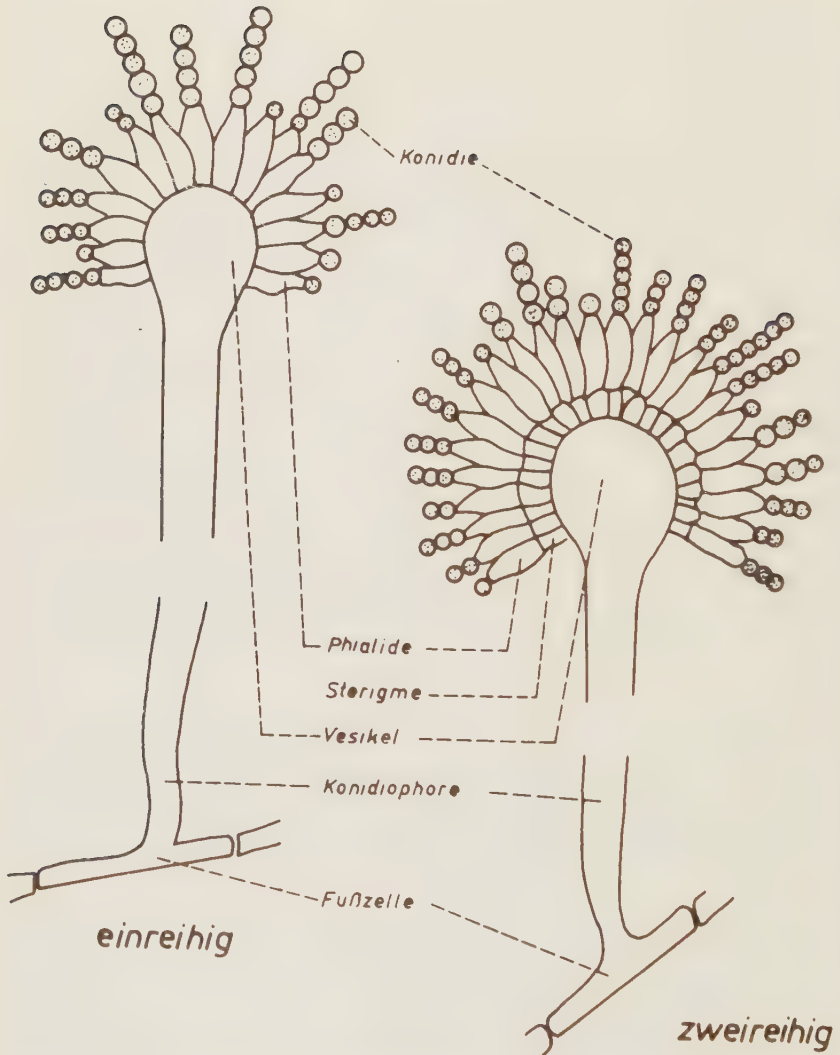


Abb.1: Gattung *Aspergillus*

Darstellung eines einreihigen und zweireihigen Köpfchens

b) Gattung Penicillium

Die Gattung *Penicillium* ist auf Grund des häufigen Vorkommens ebenfalls von Interesse für Fleisch und Fleischerzeugnisse (LEISTNER et al. 1965, 1967; HADLOK 1969a, 1971). Sie steht der Gattung *Aspergillus* sehr nahe und gehört auf Grund der nur zum Teil bekannten perfekten Form der Fortpflanzung teils zur Klasse Deuteromycetes, teils zur Klasse Ascomycetes. Bekannt ist die perfekte Form der Fortpflanzung durch Bildung von Asci zum Beispiel bei den Gattungen *Talaromyces* Benjamin und *Eupenicillium* Ludwig (v. ARX 1967, BESSEY 1965). Nach RAPER und THOM 1949 werden jedoch alle auf Grund der typischen Pinselform des Konidienapparates und weiterer Charakteristika zur Imperfektengattung *Penicillium* Link ex Fries zusammengefaßt und wie folgt beschrieben: Unter dem Pinsel, dem *penicillus*, versteht man den gesamten Konidienapparat, der sich besenförmig auf vom vegetativen Mycel ausgehenden Konidiophoren befindet, mehr oder weniger verzweigt ist und der die Konidienkette trägt. Bei Messungen ist darauf zu achten, daß nur vom Ende der Konidiophore bis zur obersten Spitze der konidientragenden Sterigmen gemessen wird. Der Pinsel (*penicillus*) ist unterschiedlich aufgebaut und charakteristisch für eine Art. Einmal kann er aus einem einzelnen endständigen Wirtel aus konidientragenden Zellen, den Sterigmen, bestehen, aus welchen dann die bei der Gattung *Penicillium* stets unverzweigten Konidienketten hervorgehen. Zum anderen ist eine Verzweigung in der Weise möglich, daß sich auf einem Wirtel von Trägern oder *Metulae* erst mehrere Wirtel aus Sterigmen befinden. Eine weitere komplexe Verzweigung durch Bildung von vornehmlich pinselförmig angeordneten Zweigen, Trägern oder *Metulae*, die am Ende Wirtel aus Sterigmen mit Konidienketten tragen, ist möglich. Die Konidienapparate (*penicilli*) können symmetrisch oder asymmetrisch aufgebaut sein und entweder von separaten Konidiophoren oder auch von unregelmäßig verzweigten Ästen von fruchtbaren Hyphen ausgehen. Besonders ausgebildete Fußzellen wie bei der Gattung *Aspergillus* sind hier nicht vorhanden.

Die Metulae sind die Träger der Sterigmen und befinden sich auf den Konidiophoren direkt oder auf Zweigen von diesen. Aus den zylindrisch geformten Sterigmen gehen die bei den Arten sehr unterschiedlich geformten und unterschiedlich farbigen Konidien hervor. Auch die Größe variiert von Spezies zu Spezies. Einige Arten der Gattung *Penicillium* bilden Sklerotien aus, wobei diese jedoch für die Differenzierung nicht so bedeutungsvoll sind wie bei der Gattung *Aspergillus*. Sie bestehen aus einem pseudoparenchymatösen, harten Gewebe, gebildet aus besonders dickwandigen Zellen. Andere Arten besitzen dagegen unterschiedlich beschaffene Perithezien mit der Entwicklung von Asci und Ascosporen im Innern. Das vegetative Mycel ist bei den einzelnen Arten unterschiedlich stark ausgebildet. Die Kolonien erscheinen meist in einer grünlichen Farbe.

c) Gattung Mucor

Die Gattung *Mucor* Mich. ex Fries wird von ZYCHA 1935 folgendermaßen charakterisiert: Der Pilzrasen ist weiß oder gefärbt und hat eine Höhe von wenigen Millimetern bis zu mehreren Zentimetern. Die Sporangienträger sind mehr oder weniger verzweigt und enden stets mit einem Sporangium. Die Sporangien haben eine sehr unterschiedliche Größe, haben stets eine gut ausgebildete Columella, niemals jedoch eine Apophyse. Die Sporangienwand zerfließt oder zerbricht leicht. Die Sporen sind von kugelig oder länglicher Gestalt. Die Zygoten entstehen leiterförmig an Sporangien- oder Zygotenträgern. Es befinden sich keine Anhängsel an den Suspensoren.

d) Gattung Absidia

Die Gattung *Absidia* v. Tiegh. wird nach HESSELTINE und ELLIS 1964 in der folgenden Weise beschrieben: Das Luftmycel ist stark ver-

zweigt, hyalin oder farbig. Es werden gebogene Stolonen mit Rhizoiden und Sporangiphoren von begrenzter und unbegrenzter Länge gebildet. Die Sporangiphoren entstehen für gewöhnlich senkrecht entlang der Stolonen, aber nicht gegenüber der Rhizoide, einzeln, in Bündeln oder Wirteln und sind oft verzweigt oder septiert. Die Sporangien sind klein, pyriform, oft hellgefärbt, gipfelständig und zerfallen gewöhnlich. Die Columella ist unterschiedlich geformt und ist gewöhnlich mit Vorsprüngen versehen. Die Apophyse ist gut entwickelt. Die Sporangiosporen sind klein, einzellig, hyalin und gestreift. Die Zygosporen werden in zerstreuter Weise im Luftmycel gebildet, sind braun oder schwarz und rauh. Einer oder beide Suspensoren sind versehen mit fingerförmigen Anhängern, die oft gewunden sind und die Zygosporen einhüllen. Bei anderen Arten sind keine Vorsprünge vorhanden. Die Suspensoren sind oft von annähernd gleicher Größe.

e) Gattung Geotrichum

Die Pilze der Gattung Geotrichum Link ex Fr. bestehen nach MORENZ 1963, 1964 aus einem echten, septierten hyalinen Mycel, das ohne Ausbildung besonderer Conidienträger mehr oder weniger stark in Arthrosporen zerfällt. Die Arthrosporen sind anfänglich zylindrisch, später z.T. mehr oval bis rund. Es erfolgt eine vegetative Vermehrung durch Querteilung, nicht durch Sprossung. Die sexuelle Entwicklung fehlt oder ist unbekannt. Die Dissimilation erfolgt oxydativ, selten auch fermentativ. Die Gattung Geotrichum hat ihr Äquivalent unter den Fungi perfecti in der Gattung Endomyces Reess.

5. Methoden der quantitativen Bestimmung von Schimmelpilzen

Bei einzelnen Substanzen verschiedenster Zusammensetzung hat man auf sehr unterschiedliche Weise versucht, sich einen Überblick über die Besiedlung mit Pilzen zu verschaffen. Hier soll nur diejenige der zugänglichen Literatur genannt werden, aus welcher auf Grund der Zusammensetzung der untersuchten Substanz Verbindungen zu den Untersuchungen der Schimmelpilze in den Faeces von Schlachttieren hergestellt werden können. Die angewandte Technik spielt eine entscheidende Rolle, damit auch möglichst alle vorhandenen Pilze erfaßt werden.

CHRISTENSEN 1946 untersuchte anhand von Mehlproben, welche Faktoren für die Genauigkeit bei der Untersuchung von entscheidender Bedeutung sind. Dabei kam er zu dem Schluß, daß a) das Kulturmedium, b) die Verdünnungstechnik und c) die Auszähltechnik das Ergebnis entscheidend beeinflussen können. Er testete 10 Kulturmedien und nahm 5 davon in die nähere Auswahl und untersuchte sie vergleichend auf ihre Brauchbarkeit für die quantitative Untersuchung von Pilzen in Mehl. Das waren der Smith-Humfeld-Agar, 1930 von Smith und Humfeld für die Bestimmung von Pilzen in der Erde zusammengestellt, ein Penicillinhaltiger Nährboden, ein Kartoffel-Dextrose-Agar, welcher mit Hilfe von einem Zusatz von Milchsäure kurz vor dem Ausgießen in Platten auf einen niedrigen pH-Wert gebracht wurde, ein Maltagar, welcher 2 % Maltextrakt und 2 % Agar enthielt sowie ein Malt-Salz-Agar, der aus Maltextrakt, Kochsalz, grobem Agar und destilliertem Wasser hergestellt worden war. CHRISTENSEN stellte fest, daß ein niedriger pH-Wert von etwa 5 und eine hohe Salzkonzentration wichtig sind für gutes Pilzwachstum und zur Unterdrückung von Bakterienwachstum. Diese Meinung wird von vielen Autoren geteilt (RAPER und FENNELL 1965; RAPER und THOM 1949; FRAZIER 1967; EMPEY und SCOTT 1939). CHRISTENSEN kam zu dem Ergebnis, daß der Malt-Salz-Agar den anderen Nährböden weit überlegen ist und daß auf diesem Substrat bei einzelnen Proben

erheblich mehr Pilzkolonien zu ermitteln sind als z.B. auf dem Penicillin-haltigen Nährboden.

Einfluß des Nährmediums auf die Zahl von Pilzen
gezüchtet aus 2 Mehlproben

Nährmedium	Anzahl der Pilzkolonien pro Gramm Mehl	
	Probe 1	Probe 2
Penicillin-haltiger Agar	160	- *
Kartoffel-Dextrose-Agar	320	960
Smith-Humfeld-Agar	550	3.800
Saurer Kartoffel-Dextrose Agar	1.180	3.800
Malt-Salz-Agar	1.800	5.900

* Alle Platten mit Bakterien überwachsen, fast keine Pilze.

Zwar lassen sich auf Grund dieser Ergebnisse keine allgemeinen weiterreichenden Schlüsse auf andere Substanzen ziehen, aber sie demonstrieren die Tauglichkeit des Nährbodens bei 60 Mehlproben für die Pilzbestimmung eindeutig, auch wenn bei einzelnen Proben auf anderen Nährböden einmal eine höhere Pilzzahl bestimmt wurde und einzelne Spezies von *Rhizopus*, *Mucor*, *Alternaria*, *Penicillium* und *Aspergillus* bei dem sauren Medium relativ langsam wuchsen. Das Ergebnis zeigt aber vor allem die Wichtigkeit der richtigen Auswahl eines Mediums bei der quantitativen Bestimmung von Pilzen.

Drei Verdünnungsmethoden und das anschließende Anlegen von Kulturen beschrieb der Autor. Die besten Erfahrungen machte er mit der Herstellung einer mit sterilem Quarzsand und 0,5 %iger Kochsalzlösung hergestellten Mehlsuspension, die er mit flüssigem Agar zusammen in eine Petrischale gab, beides gut vermischte und

dann 5-7 Tage bei Raumtemperatur (20 - 25°C) stehen ließ. Dabei ging er von 5 g Mehl aus, vermischte es mit 10 g Quarzsand und 47 ml NaCl 0,5 %ig und legte eine Verdünnungsreihe an, indem er jeweils 5 ml dieser Suspension mit 45 ml 0,5 %iger Kochsalzlösung vermengte. Jeweils 1 ml der verschiedenen Verdünnungsstufen kamen mit flüssigem Agar in die Petrischale. Nicht so hohe Pilzzahlen aus gleichen Mehlproben konnte CHRISTENSEN dagegen dann erzielen, wenn er die Suspension auf die Oberfläche eines festen Agarmediums gab. Die Agarplatten waren mindestens eine Woche zuvor ausgegossen worden, damit die Fähigkeit zur Aufnahme von genügend Flüssigkeit garantiert war. Auch mittels einer trockenen Methode, bei der 10 g Mehl vermischt mit sterilem Quarzsand durch mehrmaliges Umstülpen gleichmäßig auf die Oberfläche eines festen Nährbodens gebracht worden waren, konnten nicht die mit der ersten Methode ermittelten Pilzmengen erreicht werden.

Um Fehler bei der Auszählung zu vermeiden, empfiehlt der gleiche Autor stets ein Mikroskop mit 10- bis 25-facher Vergrößerung anzuwenden, damit auch kleine für das unbewaffnete Auge nicht sichtbare Pilzkolonien berücksichtigt werden.

BONNER und FERGUS 1959 untersuchten Tierfutter auf das Vorkommen von Pilzen und wandten dabei eine ganze Reihe von Nährböden an: Maltextrakt-, Malt-Salz-, Littman-Oxgall-, Kartoffel-Dextrose sowie Czapek-Dox-Agar. Sie brachten 1 g der jeweiligen Futterprobe nach vorheriger Untersuchung und Feststellung der Veränderungen, des Wassergehaltes, des pH-Wertes, der Verschmutzung durch Erde und der Feststellung der Mikroorganismen außer Pilzen in einen Erkenmeyerkolben zusammen mit 100 ml sterilem destillierten Wasser. Nach heftigem Schütteln wurde dieses Gemisch für weitere Verdünnungen verwendet. Zur Bestimmung von im Inneren von Futterpartikeln eingeschlossenen Sporen wurden diese Partikel vorher mit Quecksilberchlorid 1 : 1.000 15 Minuten lang desinfiziert, mit sterilem destilliertem Wasser abgespült und unter

sterilen Bedingungen zerkleinert. Jeweils 0,5 ml einer Verdünnung kamen auf die Oberfläche der 5 verschiedenen Nährböden in Petrischalen und wurden 5-15 Tage lang bei + 20°C bebrütet. Der Plattensatz wurde in 4-facher Zahl angefertigt, und alle 5 Tage wurde ein vollständiger Satz von Platten zur qualitativen und quantitativen Bestimmung der Pilze verwandt. Zur Reinzüchtung wurden die Pilze in den Petrischalen ausgestochen und in Reagenzgläsern mit verschiedenem Agar gebracht.

Bei der Suche nach einem geeigneten Verfahren zur Bestimmung der Zahl und Art der Schimmelpilze in gelagertem Getreide wendete CHRISTENSEN 1957 verschiedene Methoden und Nährmedien an. Er vertrat die Ansicht, daß jedes in der Mikrobiologie angewandte Nährmedium zur Isolierung der Mikroorganismen einer Substanz zu einem gewissen Grad selektiv ist und daß besonders nicht alle Pilze mit einem Nährmedium allein zu erfassen sind. Er verglich 11 verschiedene Medien und fand heraus, daß zur Erfassung möglichst vieler verschiedener Schimmelpilze im Getreide ein Malt-Salz-Agar, bestehend aus 1-2 % Maltextrakt, 2 % Agar und 7,5-20 % Kochsalz der geeigneteste sei. Daneben wird auch noch im Gegensatz zum normalen Czapek-Dox-Agar ein Czapek-Dox-Agar mit einem Zusatz von 40-80 % Zucker empfohlen. Eine Bebrütungstemperatur von 30°C erwies sich als sehr geeignet. Bei der qualitativen und quantitativen Bestimmung der im gelagerten Getreide vorhandenen Pilzsporen empfiehlt Christensen in der folgenden Weise vorzugehen: Die Oberfläche der Getreidekörner werden zunächst desinfiziert, indem sie für eine halbe oder für eine Minute in Natriumhypochlorit getaucht und danach mit einer 7,5 %igen Kochsalzlösung abgespült werden. 5 g der Getreidekörner werden zusammen mit 500 ml einer sterilen Lösung bestehend aus 0,2 % Agar und 7,5 % Natriumchlorid in einem Waring Blendor zerkleinert. Vorversuche hatten bewiesen, daß der Agarzusatz von 0,2 % zur Suspension als Stabilisator für eine möglichst gleichmäßige Verteilung der Sporen und Kornanteile sehr geeignet ist. Es hatte sich gezeigt, daß bei der Verwendung von reinem

Wasser große Unterschiede bei Kontrollplatten zu beobachten waren, während nach dem Agarzusatz die Streuung nur etwa ± 5 bis 10 % betrug. Der Zusatz von 7,5 % Kochsalz zur Suspension ermöglicht vor allem die Erfassung von mehr Pilzen aus der *Aspergillus glaucus* Gruppe und der *Aspergillus restrictus* Gruppe. Mit Hilfe einer Pipette mit einer besonders weiten Öffnung werden jeweils 5 ml der Suspension zu 45 ml einer Suspension von gleicher Zusammensetzung oder Zusatz von Getreidekörnern hinzugegeben. Für eine gute Durchmischung ist durch kräftiges Schütteln zu sorgen. Jeweils 1 ml der so hergestellten Suspension werden in zwei oder mehr Petrischalen pipettiert. Es erfolgt die Zugabe von dem durch Erhitzen verflüssigten und auf 50° C abgekühlten Malt-Salz-Agars. Agar und Suspension werden durch Schütteln vermischt. Nach dem Abkühlen und der Festigung des Mediums in den Petrischalen erfolgt die Bebrütung bei 30° C oder bei Zimmertemperatur für zwei Tage. Danach erfolgt das Auszählen der durch Mycelwachstum gekennzeichneten Schimmelpilzkolonien unter dem Plattenmikroskop mit Hilfe von durchscheinendem Licht. Die Petrischalen sollen dabei nicht geöffnet und von der Unterseite betrachtet werden. Die Lokalisation der Kolonien wird dabei markiert, was sich bei bis zu 50 gewachsenen Kolonien pro Petrischale bewährt, besonders dann, wenn einige schneller wachsende Arten der *Aspergillus glaucus* Gruppe die langsamer wachsenden bei der Ausbreitung behindern. Eine weitere Kontrolle der angelegten Kulturen erfolgt drei Tage später. Danach werden die Kulturen so lange stehen gelassen, bis eine qualitative Differenzierung möglich ist. Häufig wird es notwendig, für die Bestimmung einzelner Kolonien diese auf Czapek-Dox-Agar mit Zusatz von 20 - 40 % Zucker zu überimpfen.

Die von CHRISTENSEN 1957 beschriebene Methode ist auch für die qualitative und quantitative Bestimmung von Schimmelpilzen im Mehl anwendbar und ist anerkannt worden als Standardnachweis von der AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS, 1957.

RAPER und FENNELL 1965 empfehlen in ihrem Buch über die Gattung *Aspergillus* eine Verdünnungsreihe von der die Sporen enthaltenden Substanz mit sterilem Wasser anzulegen und zur Auswertung diejenige Verdünnung heranzuziehen, bei der in der bebrüteten Petrischale eine zählbare und gleichmäßig getrennte Kolonienzahl vorhanden ist. Dabei werden je 1 ml von den 2 oder 3 ausgewählten Verdünnungsstufen zusammen mit flüssig gemachtem Agar bei 45°C in Petrischalen gegeben, und durch Kreisbewegungen soll eine gleichmäßige Durchmischung garantiert werden. Der Schluß, daß jede einzelne Kolonie von einer einzelnen Spore stammt, kann allerdings nicht gezogen werden, aber die Autoren meinen, daß bei sorgfältig durchgeführter Methode mehr als 95 % der Kolonien von solchem Ursprung sind. Damit eine gleichmäßige Verteilung der Sporen in der Suspension erzielt wird, empfehlen RAPER und FENNELL die Zugabe von einem brauchbaren Aerosol zur Suspensionsflüssigkeit und wendeten selbst Natriumlaurylsulfonat in einer Konzentration von 1:10 000 oder 1:100 000 mit Erfolg an, d.h. ohne daß sich sichtbare Veränderungen bei den gewachsenen Pilzen einstellten. Die Autoren sehen die Verdünnungsmethode zur Erzielung von Einzelsporenkulturen für viele Zwecke besonders wegen der verhältnismäßig schnellen Anwendungsweise für gut an, weisen aber darauf hin, daß eine völlige Trennung von den begleitenden Bakterien nur bei zusätzlicher Zugabe von Antibiotika möglich ist.

HADLOK 1969 b wandte bei seinen Arbeiten über den Schimmelpilzgehalt naturbelassener Gewürze folgende Methode an: 5 g eines gemahlenden Gewürzes wurden in ein Gemisch aus 74 ml steriler physiologischer Kochsalzlösung und 1 ml 1 %iger NatriumlaurylsulfonatLösung gegeben, wobei letztere Flüssigkeit wie bei RAPER und FENNELL 1965 zur Benetzung der Sporen und damit gleichmäßigen Verteilung in der Suspension zugegeben wurde. Nach ordentlicher Durchmischung erfolgte die Zugabe von 20 ml Carboxymethylcellulose, ca. 35/37 %, Flocken in 10 %iger Lösung,

welche der Viskositätserhöhung und der stabilen Verteilung der einzelnen Teile in der Suspension diene. Von dem Gewürzhomogenisat wurden weitere Verdünnungsstufen je nach zu erwartenden Schimmelpilzzahlen mit Hilfe von physiologischer Kochsalzlösung und 2 % Carboxymethylcellulose angefertigt. Von jeder Verdünnungsstufe wurden in 3 Petrischalen jeweils 1 ml Suspension zusammen mit 15 ml verflüssigtem, etwa 45°C warmen Nährmedium gegeben und nach guter Durchmischung im Brutschrank bei + 25°C $\pm$ 1°C bebrütet. Als Nährmedium wurde zur Erfassung der Gesamtschimmelpilzzahl Malt-Agar (Oxoid) plus 3 % Saccharose und zur speziellen Untersuchung auf osmophile Arten der Aspergillus glaucus-Gruppe Czapek (-Dox)-Agar (Oxoid) plus 17 % Saccharose angewandt. Beide Medien wurden auf einen pH-Wert von 4,5 eingestellt. Das Wachstum der Schimmelpilze wurde nach 12 Stunden und dann 7 Tage lang alle 24 Stunden kontrolliert, und jede durch Mycelwachstum charakterisierte Kolonie wurde unter dem Plattenmikroskop ausgestochen und zur Weiterzüchtung und Differenzierung auf Malt-Schrägagar-Röhrchen verbracht.

Bei den mir zugänglichen Arbeiten mit Angaben über das Vorkommen von Schimmelpilzen im Magen- Darmtrakt von Tieren wurden die folgenden Hinweise zur Methodik, die mehr oder weniger auf die Bestimmung der quantitativen Zusammensetzung der Schimmelpilzflora abgestellt sind, gegeben. Von EMPEY und SCOTT 1939 wurden 5 Proben von frisch gewonnenem Kot und 2 Proben vom Panseninhalt von Schlachtrindern untersucht. Über die Durchführung der Untersuchung wurde jedoch nur die Angabe gemacht, daß ein modifizierter Czapek-Agar mit einem pH-Wert von 3,5 angewendet wurde, der bei + 20°C und - 1°C bebrütet wurde.

BATISTA et al. 1961 wendeten bei ihren Untersuchungen über das Vorkommen von Schimmelpilzen in Kotproben von einer großen Zahl von Rindern die folgende Methode an. Der Kot wurde in sterile Röhrchen entnommen und sofort in ein flüssiges Sabouraud-Nährmedium mit einem Zusatz von Ledermycin gegeben.

Das Gemisch wurde 24 Stunden geschüttelt und wurde darauf zur Beimpfung eines Sabouraud-Agars ebenfalls mit Zusatz von Ledermycin und einem pH-Wert von 6,0 verwendet. 3 bis 4 Tage später wurden dann die gewachsenen Kolonien in Röhrchen mit Sabouraud-Glukose-Agar übertragen und differenziert. Den Versuchen lag das Ziel zu Grunde, etwas über die qualitative Zusammensetzung der Schimmelpilzflora der Faeces zu erfahren und weiterhin zu ermitteln, welche Schimmelpilze häufig in Kotproben von Rindern anzutreffen sind.

ROLLE und KOLB 1954 machten Versuche, um Aussagen über die Häufigkeit, Vermehrungsfähigkeit und Bedeutung von thermophilen Schimmelpilzen im Magen- Darmtrakt der Haustiere zu machen. Dabei untersuchten sie verschiedene Proben vom Darminhalt im Nativpräparat (Deckglas, hängender Tropfen) mikroskopisch, sowie in nach Gram gefärbten Ausstrichen. Weiterhin wurden kulturelle Prüfungen mit besonders zuckerhaltigen Nährmedien (Gassner, pH 7,6; Maltosepepton, pH 5,0; Bierwürz, pH 5,5; Mannitagar nach Hopffe, pH 6,0) durchgeführt.

VAN UDEN und SOUSA 1957 beschrieben das Vorkommen von Schimmelpilzen im Caecum von Rindern nur als Nebebefund bei ihren Untersuchungen über den Gehalt an Hefen im Blinddarm. Dabei gingen sie so vor, daß sie eine Öse voll Darminhalt zunächst in einer Brühe, bestehend aus 2 % Glukose, 0,5 % Hefeextrakt (Difco) 1 % Pepton und destilliertem Wasser mit einem Zusatz von 50 E Penicillin und 100 E Streptomycin pro ml für 3-4 Tage bei 37°C bebrüteten und diese dann zum Ausstreichen auf Plattenmedien benutzten. Der Nährboden, von dem die einzelnen Kolonien nach Wachstum ausgestochen und isoliert wurden, hatte die gleiche Zusammensetzung wie die Brühe, mit dem Unterschied eines Zusatzes von 2 % Agar und einem mit Hilfe von Milchsäure auf 3,5 eingestellten pH-Wert.

Zur Unterdrückung von einzelnen, sich sehr schnell ausbreitenden Pilzarten und unerwünschtem Bakterienwachstum gibt es verschiede-

dene Stoffe, die spezifisch das Wachstum von diesen zurückdrängen, so daß andere Pilzarten in ihrem Wachstum nicht unterdrückt werden. So hat CURL 1968 42 Farbstoffe, Alkaloide, Pflanzenwachstumsregulationsstoffe und Chemikaliengemische als Zusatzstoffe zusammen mit dem Farbstoff Bengalrosa zu einem Pepton-Dextrose-Streptomycin-Agar zur Differenzierung von Pilzen im Boden getestet. Dabei hat ein bestimmter Pflanzenhemmstoff und zwar 2,4 Dichlorbenzyl-tributylphosphonium Chlorid (Phosfon) angewendet in einer Konzentration von 800 $\mu\text{g/ml}$ die Zahl der Pilzkolonien auf dem Nährboden erheblich erhöht, während das Überwuchern des Nährbodens mit Arten von Trichoderma und den Mucoraceen verhindert wurde. Selbst bei 60-70 Kolonien in einer Petrischale blieben diese noch 2 Wochen nach der Auszählung bestimmbar. MARTIN 1950 testete Säuren, den Farbstoff Bengalrosa und Streptomycin als Zusatz zu verschiedenen Pilznährböden und fand heraus, daß ein Pepton-Dextrose-Agar mit einem Zusatz von 1:30 000 Bengalrosa und 30E Streptomycin der beste Nährboden zur Bestimmung von Pilzen im Boden sei. Dabei erhielt er bis zu 100 % mehr Pilze als auf anderen Nährböden (Glukose-Nitrat-Bodenextrakt-Agar, Pepton-Oxgall-Agar) und bis zu 14 % mehr Pilzarten, während Bakterienwachstum weitgehend verhindert wurde und einzelne sich schnell ausbreitende Pilzarten stark im Wachstum gehemmt wurden.

II. 1. Vorkommen von Schimmelpilzen in dem Magen-Darmtrakt und den Faeces von Haustieren

In der zugänglichen Literatur finden sich nur wenige Angaben über den qualitativen und quantitativen Schimmelpilzgehalt im Magen-Darmtrakt und den Faeces von Schlachttieren.

Eine zahlenmäßige Angabe über Schimmelpilze im Darm von Schlachttieren ist nur bei EMPEY und SCOTT 1939 zu finden, die bei ihren in Australien durchgeführten Untersuchungen über die mikrobielle Kontamination des Fleisches während der Bearbeitung auf den Inhalt des Magen - Darmtraktes als Kontaminationsquelle hingewiesen haben. Sie untersuchten 5 Proben frisch gewonnen Kotes und 2 Proben frisch gewonnenen Panseninhaltes von Schlachtrindern auf ihren Gehalt an Mikroorganismen. Genaue Angaben zur Untersuchungsmethodik wurden nicht angegeben. Lediglich erscheint der Hinweis, daß bei allen Untersuchungen auf das Vorliegen von Pilzen und Hefen ein modifizierter Czapek-Agar zur Anwendung kam und zwar mit einem pH-Wert von 3,5, erreicht durch Zugabe von Schwefelsäure (0,5 N). Das Ergebnis der Untersuchung hinsichtlich der ermittelten Pilzzahlen (pro Gramm Trockenmasse) ist aus der folgenden Tabelle ersichtlich:

Material	Temperatur der Bebrütung °C	Hefen	Pilze
Kot	+ 20	$2,0 \times 10^5$	$6,0 \times 10^4$
	- 1	70	1.700
Panseninhalt	+ 20	$1,8 \times 10^5$	1.600
	- 1	<50	60

Die niedrige Bebrütungstemperatur von -1°C wurde gewählt, weil es den Verfassern auf die Kontamination von Fleisch im Hinblick auf die Herstellung von Gefrierfleisch ankam. Bezieht man die Zahlen der gefundenen Mikroorganismen auf nicht getrockneten feuchten Kot bzw. Panseninhalt, so muß man etwa 10 % der in der Tabelle angegebenen Werte für den Kot und etwa 8 % der für den Panseninhalt angegebenen Werte nehmen. Die Verfasser sahen als Ursache für eine Kontamination des Fleisches mit diesen Mikroorganismen sowohl das zwar seltene versehentliche Aufschlitzen eines Darmes durch das Messer eines Schlachters als auch eine Verschmutzung des Felles mit frischem Kot an.

BATISTA et al. 1961 untersuchten Kotproben von 629 Rindern auf das Vorkommen von Hefe- und Schimmelpilzen. Die Tiere stammten aus 6 Staaten im Nordosten von Brasilien und gehörten verschiedenen Rassen an. Ziel der Untersuchungen war es, Aufschluß über die qualitative Zusammensetzung der Pilzflora der Faeces zu bekommen und festzustellen, welche Pilzarten in einer größeren Anzahl von Kotproben enthalten waren. Schließlich sollte versucht werden, aus den Ergebnissen abzuleiten, ob eine gegenseitige Beeinflussung (Wachstumshemmung- oder förderung) von verschiedenen Pilzarten zu beobachten ist. Vor den Untersuchungen wurden die Tiere 15 Tage lang mit gleichem Futter gefüttert. Der Kot wurde steril entnommen und 1 Gramm wurde sofort in 5 ml flüssiges Sabouraud-Nährmedium mit einem Zusatz von Ledermycin gegeben. Nach 24 stündigem Schütteln diente diese Suspension zum Beimpfen eines festen Sabouraud-Nährmediums mit einem auf 6,0 eingestellten pH-Wert und einem Zusatz von Ledermycin. Nach 3 bis 4 Tagen wurden die gewachsenen Pilzkolonien durch Ausstechen isoliert und an Hand ihrer Morphologie differenziert. Bei der zahlenmäßigen Zusammenstellung wurde jeweils nur ein Pilz von jeder Art in einer Kotprobe berücksichtigt. Auf diese Weise konnten 1 058 Pilze aus dem Kot der 629 Tiere isoliert werden, und zwar handelte es sich um 824 Hefepilze und um 234 Schimmelpilze. Aus 5 Kotproben konnten über-

haupt keine Pilze isoliert werden. Die Art *Geotrichum candidum* Link (13 %) kam am häufigsten von den Schimmelpilzen vor. Weiterhin wurden Spezies folgender Schimmelpilzgattungen isoliert: *Aspergillus* (5,8 %), *Absidia* (4,9 %), *Paecilomyces* (2,8 %), *Penicillium* (2,6 %), *Mucor* (2,2 %), *Monilia* (2,0 %), *Cladosporium* (0,4 %), *Sordaria* (0,4 %), *Fusarium* (0,4 %), *Pythium* (0,3 %), *Hyalopus* (0,1 %), *Nigrospora* (0,1 %) und *Curvularia* (0,1 %). Die in Klammern angegebenen Zahlen geben in Prozenten an, aus wieviel der 629 Kotproben eine Gattung oder Art isoliert werden konnte. Es konnten aus 39 der 629 untersuchten Kotproben Schimmelpilze der Gattung *Aspergillus* differenziert werden. Dabei handelte es sich um folgende Spezies:

<i>Aspergillus niger</i> van Tieghem	aus 10 Kotproben
<i>A. ustus</i> (Bainier) Thom & Church	aus 7 Kotproben
<i>A. flavus</i> Link	aus 6 Kotproben
<i>A. versicolor</i> (Vuill.) Tiraboschi	aus 4 Kotproben
<i>A. fumigatus</i> Fres.	aus 4 Kotproben
<i>A. terreus</i> Thom	aus 3 Kotproben
<i>A. variegatus</i> (Berk. & Br.) Thom & Raper	aus 2 Kotproben
<i>A. japonicus</i> Saito	aus 2 Kotproben
<i>A. tamarii</i> Kita	aus 1 Kotprobe

Die Untersuchungen auf die Möglichkeit des Vorhandenseins von Synergismus und Antagonismus seitens der Mikroorganismen im Magen-Darmtrakt der Rinder ergab durch tabellarische Gegenüberstellungen, daß eine solche Beeinflussung der Pilze untereinander nicht besteht. Nur in sehr wenigen Fällen kam nur eine Pilzart allein in einer Kotprobe vor.

MONVOISIN 1918, der beim Gefrierfleisch hauptsächlich die Schimmelpilze *Thamnidium elegans*, *Mucor mucedo*, *Rhizopus spec.* sowie Pilze der Gattung *Penicillium* nachwies, sah als Ursache für diese Kontamination die Tatsache an, daß Schimmelpilze mit Regelmäßigkeit in den Exkrementen der Pflanzenfresser anzutreffen sind, welche dann beim Ausschachten des Tieres mit dem Fleisch in Berührung kommen können.

HADLOK 1968 a hat in den Faeces von Schlachttieren verschiedene Schimmelpilze nachgewiesen und zum Teil auch bis zur Art differenziert. So fand er beim Rind die Gattung *Absidia*, vertreten durch die Art *Absidia ramosa*, während beim Schwein die Gattungen *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor* und *Rhizopus* vorkamen. Von der Gattung *Aspergillus* wurden die Arten *A. fumigatus* und *A. terreus* gefunden, von der Gattung *Mucor* *M. circinelloides* und von der Gattung *Rhizopus* *Rhizopus arrhizus*.

Mit der Frage des Vorkommens von Schimmelpilzen im Magen-Darmtrakt der Haustiere haben sich auch ROLLE und KOLB 1954 beschäftigt und Untersuchungen über die Häufigkeit, Vermehrungsfähigkeit und Bedeutung von thermophilen Schimmelpilzen aus den Familien der *Mucoraceae* und *Aspergillaceae* durchgeführt. Es wurden einmal "zahlreiche" Proben des Dickdarminhaltes von Rindern, Schafen, Pferden und Schweinen vom Schlachthof untersucht und zwar nach Verdünnen des Materials in Nativpräparaten (Deckglas, hängender Tropfen) sowie in nach Gram gefärbten Ausstrichen. Als Nährmedium für kulturelle Prüfungen wurden besonders zuckerhaltige, wie Gassner-(pH 7,6), Maltosepepton-(pH 5,0), Bierwürz-(pH 5,5) sowie Mannitagar nach Hopffe (pH 6,0) verwendet. Die Verfasser berichten, daß sie in großer Zahl thermophile Schimmelpilze aus dem D i c k d a r m i n h a l t der Pflanzenfresser züchten konnten. Dabei entwickelte sich nahezu regelmäßig *Absidia ramosa* (Lindt) und weiterhin häufig *Aspergillus glaucus* (Link), *Aspergillus fumigatus* (Fres.), *Aspergillus niger* (v. Thiegh) und *Aspergillus flavus* (Link). Dagegen ließen sich *Mucor pusillus* (Lindt) und *Scopulariopsis brevicaulis* (Bain.) seltener nachweisen, und nach längerem Stehenlassen der Platten entwickelten sich auch noch andere *Mucoraceae*, *Aspergillaceae* und *Penicillia* sowie andere Vertreter der Fungi imperfecti. Den Verfassern gelang es in keinem Fall trotz eingehender Durchmusterung der Nativpräparate des Darminhaltes Hyphen oder Mycelien der erwähnten Schimmelpilze nachzuweisen, so daß sie den Schluß zogen, daß im Darmkanal keine Entwicklung der Schimmelpilze erfolgt. Die Pilze passieren danach

nur in Sporenform den Darmkanal, ohne zu keimen und können daher auch keine Rolle bei der Verdauung spielen. Dies wiesen die Verfasser auch durch einen Fütterungsversuch an 8 Mäusen und 4 Meerschweinchen nach, die während der dreiwöchigen Fütterung mit Schimmelpilzsporen diese in den Faeces ausschieden, während spätere K o t u n t e r s u c h u n g e n negativ ausfielen.

Bei der Untersuchung über das Vorkommen von Schimmelpilzen im P a n s e n von Rindern und Schafen konnten die Verfasser hauptsächlich *Absidia ramosa*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus glaucus* und *Aspergillus niger* nachweisen, und *Mucor pusillus*, *Aspergillus flavus* sowie *Scopulariopsis brevicaulis* waren seltener. Wiederum wuchsen beim längeren Stehenlassen der Platten noch andere *Mucoraceae*, *Aspergillaceae*, *Penicillia* und Vertreter der Fungi imperfecti. Ein interessanter Versuch an einem Schaf, welchem in Wasseraufgeschwemmte Pilzkulturen direkt in den Pansen eingegeben wurden, ergab, daß die Hyphen und Mycelien infolge ihrer Zartheit durch die dauernden Kontraktionen bei der Durchmischung im Pansen zerrieben werden und sehr schnell der bakteriellen Zersetzung anheimfallen. Auch konnten die Verfasser im Versuch nachweisen, daß eine Hemmung von *Absidia ramosa* in Gegenwart von reichlich Colikolonien zu beobachten war und daß die Hyphen gegenüber diesen Bakterienkolonien einen negativen Tropismus zeigten.

VAN UDEN und SOUSA 1957 konnten bei ihren Untersuchungen, die Aufschluß über den Gehalt an Hefen im Caecum von Rindern geben sollten, als Nebenfund auch in den meisten der 250 untersuchten Därme von erwachsenen Rindern Pilze der Gattungen *Aspergillus*, *Mucor*, *Rhizopus* und *Absidia* nachweisen. Dazu wurden Proben des Darminhaltes in einer Nährbrühe bebrütet und danach auf festen Nährmedien ausgestrichen, von welchen dann die einzelnen Pilzkolonien durch Ausstechen isoliert wurden. Die Methode wurde bereits ausführlich im letzten Kapitel beschrieben (s. Seite 35).

Die von einigen Autoren vertretene Auffassung, daß Schimmelpilze stets zur mikrobiellen Flora des Magen-Darmtraktes gehören und auch eine Rolle bei der Verdauung spielen sollen, wie für den Abbau der Cellulose von HOPFFE 1919a, des Pektins von WÖHLBIER 1949, für die Nitrat- und Nitritreduktion im Pansen von Schafen von HOLTENIUS und NIELSEN 1957 und die physiologische Funktion des Pansen überhaupt von HOFLUND und HEDSTRÖM 1946 und HOPFFE 1919 b berichtet wurde, lehnen viele Verfasser ab (MEHNERT 1966, PESTI 1967, ROLLE und KOLB 1954, ROLLE / MAYR 1966).

So schreibt WÖHLBIER 1949 den Bakterien und Schimmelpilzen, welche Pektin zu lösen in der Lage und in zahlreichen Arten nachgewiesen sind, eine große Bedeutung zu. HOPFFE 1919a gelang es auf der Suche nach celluloselösenden Mikroorganismen, einen Schimmelpilz zunächst aus dem Pansen des Rindes, dann aus dem Magen-Darmtrakt zahlreicher Tierarten regelmäßig zu isolieren. Im Hinblick auf seine Eigenschaften wurde der Cellulosevergärer *Aspergillus cellusae* genannt. Eine spätere Überprüfung des Stammes ergab, daß es sich um einen *Aspergillus fumigatus* Fresenius handelte (RAPER und FENNELL 1965).

HOLTENIUS und NIELSEN 1957 konnten aus dem Panseninhalt von 21 von 23 untersuchten Schafen Pilze isolieren. Sie verwendeten zwei Nährmedien mit einem Zusatz von steriler Pansenflüssigkeit. 100 ml dieser Medien enthielten 10 g KNO_3 oder 6 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 5 g KH_2PO_4 , 2,5 g MgSO_4 , 7 H_2O , 40 g Glukose, 50 ml sterile Pansenflüssigkeit und 15 g Agar. Durch den Zusatz der Pansenflüssigkeit sollten für das Pilzwachstum im Pansen von Schafen eventuell notwendige Wachstumsfaktoren zur Verfügung gestellt werden. Der zu untersuchende Panseninhalt wurde mit Hilfe eines Trokars unter sterilen Bedingungen von auf der Weide gehaltenen Schafen wie von Schafen im Stall entnommen, die mit Heu, Getreide und etwas Melasse gefüttert worden waren. Das zu untersuchende Material wurde nach Verdünnung und Zugabe zum Nährmedium in Pterischalen bei 30°C betrüet. Die gewachsenen Pilze wurden gezählt,

isoliert und zum Teil differenziert. Die meisten differenzierten Pilze gehörten zu der Familie Mucoraceae. Es waren etwa 20 bis 100 Pilzstämme aus 1 ml Pansenflüssigkeit zu isolieren, wobei aber erwähnt wird, daß viele Pilze nicht zu erfassen waren, da sie nur unter besonderen Bedingungen wachsen würden oder da sie von den schnell wachsenden Arten überwuchert und am Wachstum gehindert wurden. Unterschiede bedingt durch Weide- oder Stallfütterung wurden nicht festgestellt. Zwei der isolierten Pilzstämme, ein Stamm *Absidia ramosa* und ein Stamm einer Fusarienart, besaßen das Vermögen Nitrat zu Nitrit zu reduzieren. Ihnen wurde für die Nitrat- und Nitritreduktion im Pansen Bedeutung beigemessen.

Weiterhin wurden Pilze als für die Pansenfunktion notwendige Mikroorganismen von HOFLUND und HEDSTRÖM 1946 und von HOPFFE 1919 b beschrieben. Nach HOPFFE 1919b handelte es sich dabei um Schimmelpilze der Gattungen *Penicillium* und *Aspergillus*. Einer Zusammenstellung von ROJAHN 1968 der in der Literatur beschriebenen Schimmelpilze, die aus dem Pansen der Wiederkäuer isoliert wurden, ist weiterhin zu entnehmen, daß SIVERS 1962 bei Rindern in der UdSSR und CIENCIALA 1962 bei Schafen in Polen verschiedene Pilze isolieren konnten. So fand SIVERS 1962 *Absidia ramosa*, *Absidia corymbifera*, *Mucor pusillus*, *Aspergillus fumigatus* und *Geotrichum candidum*, während CIENCIALA 1962 die folgenden Gattungen bzw. Arten isolieren konnte: *Circinella* sp., *Mucor mucedo* Fres., *Rhizopus nigricans* Ehrenb., *Aspergillus niger* v. Tiegh, *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Rhodotorula* sp., *Oospora* sp., *Trichoderma* sp., *Cladosporium* sp.

HAWKER et al. 1966 hielten es für noch nicht bewiesen, ob gekeimte Schimmelpilzsporen irgendeine Rolle beim Zelluloseabbau im Darm spielen. Die Bedeutung würde aber auch im Vergleich mit den zahlreichen zelluloseabbauenden Pansen- und Darmbakterien nur gering sein. Nach Angaben der Verfasser enthält der Kot verschiedener Pflanzenfresser eine große Pilzflora. Viele ihrer

Vertreter sind zwar nur zufälligerweise aus dem Boden oder der Luft mit dem Dung in Berührung gekommen, einige Arten, wie z.B. Vertreter der Zygomycetes, Ascomycetes und Basidiomycetes, sind aber immer mit bestimmten Tierarten vergesellschaftet. Systematische Beziehungen der "koprophilen Pilze" brauchen nicht zu bestehen. Ihre Sporen werden mit Gras oder anderem Futter aufgenommen und passieren den Verdauungstrakt der Tiere. Nach Ansicht der Autoren keimen viele davon während der Passage durch den Darm aus und können so mit schnellwachsenden Arten, z.B. der Gattung *Mucor*, die erst nach der Ausscheidung in den Kot gelangt, konkurrieren.

Demgegenüber schreiben ROLLE / MAYR 1966 den meisten im Bereich des Verdauungstraktes anzutreffenden Pilzen nur die Rolle von Passanten zu, sofern sie nicht überhaupt während der Magen-Darmpassage verdaut werden. Zu einer Vermehrung sind nach der Ansicht der Verfasser nur einige wenige Arten und zwar unter physiologischen Bedingungen nur hefeartige Pilze, wie einige Species von *Candida*, *Torulopsis*, *Saccharomycopsis*, *Sacharomyces* und *Pichia* befähigt. Nach GEDEK 1970 kommt es bei der Aufnahme von Pilzen mit der Nahrung meist nur zu geringen Schäden, da die aufgenommenen Sporen der Schimmelpilze unverdaut und die Mycelien nur leicht anverdaut den Digestionstrakt von Tieren passieren und da der Körper bei der Aufschließung von Sproßzellen mancher Hefearten während der Magen-Darmpassage durch Freisetzung von Aminosäuren und B-Vitaminen eher Nutzen zieht. Auch PESTI 1967 vertritt die Meinung, daß Pilze nicht zur physiologischen Darmflora des Schweines gehören und konnte nur gelegentlich Pilze, meist "*Monilia*", bei seinen Untersuchungen über die Zusammensetzung der bakteriellen Flora von gesunden Schweinen feststellen.

MEHNERT 1965 stellt fest, daß bei der Erfassung der Zusammensetzung der Schleimhäute des menschlichen und tierischen Organismus besiedelnden Mikroflora von vielen Untersuchern außer

acht gelassen wird, daß neben Viren und Bakterien auch Pilze am Aufbau einer Mikrobiozönose beteiligt sein können. Es wird aber festgestellt, daß von den im Darminhalt nachweisbaren Pilzen nur wenige Spezies innerhalb des Warmblüterorganismusentwicklungsfähig sind. Dagegen sollen die Mehrzahl aller mit der Nahrung in den Verdauungstrakt gelangten Pilzarten während der Magen-Darmpassage der Verdauung unterliegen, oder sie sollen, ohne daß sie erheblich an Zahl zugenommen haben, unverdaut wieder ausgeschieden werden. Letzteres Verhalten zeigen nach Mehnert besonders alle sporangiosporen- oder konidienbildenden Pilze, zu denen vor allem die ubiquitär verbreiteten Schimmelpilze zählen. Die Sporen dieser Pilze widerstehen zwar der Einwirkung der Verdauungsfermente, es kommt aber nicht zu einem Auskeimen der Sporen im Darm. Dagegen sollen sich nur die Thallosporenbildner, d.h. jene Pilze, die zur Bildung von Blastosporen, Arthrosporen und Chlamydosporen befähigt sind, innerhalb des Verdauungstraktes vermehren können. Diese Art der Fortpflanzung zeigen besonders die Sproßpilze oder Hefen.

Nach GEDEK 1967 kommt es zu keiner wesentlichen Vermehrung der mit dem Futter aufgenommenen Pilze während der Magen-Darm-Passage, und sie sollen verdaut oder unverdaut wieder ausgeschieden werden. Einer Vermehrung innerhalb des Makroorganismus wird normalerweise durch die auf den Schleimhäuten des Tierkörpers ansässige Bakterienflora Einhalt geboten. Dagegen können sich diese nach Einwirkung einer Noxe auf das Tier, wie Futterumstellung, therapeutische Behandlung besonders mit Antibiotica sowie Magen-Darmstörungen, plötzlich vermehren und auch in das Körperinnere eindringen, indem sie die Schleimhaut durchwandern (GEDEK 1967; MEHNERT und SCHIEFER 1965). Dabei soll es sich beim Pilzbefall der Schleimhaut mit nachfolgender hämatogener oder lymphogener Aussaat vornehmlich um Rhizopus-, Mucor- und Absidia-Arten handeln

(MEHNERT und SCHIEFER 1965). Diese Erscheinung beschrieben GEDEK 1967 und MEHNERT 1967 als die Aufzuchtkrankheit Mucormykose. Die genannten 3 Gattungen der Familie Mucoraceae befallen beim Schwein aber nur den unteren Verdauungsabschnitt (MEHNERT 1966).

Andere Autoren berichten über verschiedene Pilzkrankheiten, ausgehend vom Magen-Darmtrakt, die mit klinischen Symptomen einhergingen. So untersuchten AINSWORTH und AUSTWICK 1955 a, b zwei Jahre lang die in England und Schottland aufgetretenen Mykosen bei Farmtieren. Es wurden 18 Tiere - 14 Rinder, 2 Schweine, 1 Pferd und 1 Hund - bei denen sich hauptsächlich Symptome wie Durchfall, John'sche Krankheit und massiver Wurmbefall zeigten, untersucht. Dabei wurden Schimmelpilze isoliert, die man fast alle zu den normalen Vertretern der Pilzflora des Kotes rechnen muß.

Absidia corymbifera war mit 35 % aller vorkommenden Pilze am stärksten vertreten, und weiterhin kamen *Absidia ramosa*, *Aspergillus glaucus sensu latum*, *Trichoderma köningii* und *Scopulariopsis brevicaulis* vor.

Nachfolgend in Tabelle 4 sind die von den verschiedenen Autoren aus dem Magen - Darmtrakt und den Faeces isolierten Schimmelpilze der Gattung *Aspergillus* aufgeführt. In der Tabelle sind Angaben über Autor, Jahr, Pilzgattung und Pilzart enthalten. Ein ⊕ und seine entsprechende Stellung in der Tabelle gibt an, daß von dem jeweiligen Autor Schimmelpilze der angegebenen Gattung nachgewiesen wurden. In gleicher Weise gibt ein + an, daß eine Art isoliert wurde.

2. Herkunft der Schimmelpilze, die im Magen-Darmtrakt und den Faeces der Haustiere anzutreffen sind.

Von Bedeutung für eine Besiedlung des Magen-Darmtraktes der Haustiere mit Schimmelpilzen ist die Umgebung, in der die Tiere leben. Für die Mehrzahl der Pilzarten stellt der Boden den natürlichen Standort dar, von wo aus die Pilzsporen durch Futteraufnahme bzw. durch Einatmung in das Körperinnere der Tiere gelangen (GEDEK 1967; HAWKER et al. 1966). Dadurch bedingt ist die qualitative und quantitative Zusammensetzung der Pilzflora im Futter und in der Umgebung der Tiere sehr unterschiedlich, was einige Verfasser zu Untersuchungen veranlaßt hat.

a) Schimmelpilze im Futter

Auf Grund der vielfältigen Zusammensetzung, der Herkunft der Verarbeitungsart, der Lagerungsweise sowie der oft langen Lagerungszeit ist das Futter der Haustiere meist mehr oder weniger stark mit Pilzwachstum oder Pilzsporen versehen (CHRISTENSEN 1957; GEDEK 1970; AUSTWICK 1967). Gemessen an den bei Futteraufnahme gegebenen Infektionsmöglichkeiten sind die auftretenden Mykosen und Mykotoxikosen relativ gering an Zahl. Das ist darauf zurückzuführen, daß der gesunde Organismus im allgemeinen in der Lage ist, einer Infektion mit Pilzen Herr zu werden und die aufgenommenen Pilze meist wieder verdaut oder unverdaut ausscheidet (GEDEK 1967, 1970; ROLLE / MAYR 1966).

Das Auftreten von Erkrankungen wird erst durch eine Störung des Allgemeinbefindens der Tiere auf Grund anderer Ursache oder durch einen sehr massiven Befall des Futters mit Pilzen hervorgerufen (MEHNERT und SCHIEFER 1965; GEDEK 1967).

Die Anreicherung der Schimmelpilze im Futter und die qualitative Zusammensetzung hängt weitgehend vom Wassergehalt des Substrates, von der relativen Luftfeuchtigkeit der Umgebung und anderen Faktoren wie Temperatur, verfügbarer Sauerstoff und jeweiliger Zusammensetzung der übrigen Mikroflora im Futter ab (GEDEK 1967; KOLK 1967; GOLDBACH 1968).

AUSTWICK 1967 bezweifelte sogar, daß es irgendwelche Nahrungsmittel gibt, die nicht in irgendeiner Form Pilze enthalten, da sie alle mindestens der Sporen enthaltenden Umgebung ausgesetzt sind. GEDEK 1970 verlangt eine Verbesserung der Hygiene der Futtermittel, die schon in den Produktions- und Herstellungsbetrieben und auch in fremden Ursprungsländern beginnen muß, aus denen viele Rohstoffe importiert werden und in denen schon vom Klima her die Wachstumsbedingungen für Pilze noch günstiger sind. Ist ein Futtermittel einmal mit bestimmten Keimen verunreinigt, wozu natürlich auch die Erreger der bakteriellen, sog. "foodborne infections" gehören, die vor allem über Fäkalien in das Futter gelangen, setzt in Abhängigkeit von den Umweltbedingungen früher oder später die Vermehrung der Pilze und Bakterien ein (GEDEK 1970).

BONNER und FERGUS 1959 haben Futtermittel für Rinder untersucht und die darin enthaltenen Schimmelpilze qualitativ und quantitativ bestimmt. Es gelangten Gras, Heu unterschiedlicher Qualität, Silage aus verschiedenen Rohstoffen, Blätter und Gemüse sowie Getreide zur Untersuchung. Zur Erfassung aller Pilze mit unterschiedlichen Wachstumsbedingungen wurde von den Autoren die bereits auf Seite 30 beschriebene Methodik verwandt. Von den untersuchten 26 Futterproben konnten 64 Schimmelpilzarten aus 3 Klassen, 7 Ordnungen und 12 Familien isoliert werden. Bei dieser großen Zahl verschiedener Pilze konnte eine ganze Reihe pathogener bzw. giftiger Spezies nachgewiesen werden, und es war auch in 16 Fällen zu nachweislichen Beschwerden im Tierbestand gekommen. Die Pilze befanden sich auf der Oberfläche der Futterbestandteile wie

zum Teil im Inneren, wo sie nach Reinigung der Oberfläche mit Quecksilber 1:1000 und anschließendem Zerquetschen nachgewiesen wurden. Arten der Gattung *Aspergillus* waren am häufigsten, d.h. in 25 Proben vorhanden. Daneben waren Arten der Gattung *Mucor*, *Rhizopus*, *Penicillium*, *Cephalosporium*, *Paecilomyces*, *Scopulariopsis*, *Trichoderma* und *Fusarium* sowie einige andere Arten vertreten.

ECKLES et al. 1924 untersuchten 19 Proben von Futtersilage, die verschiedenen Silos in Minnesota in Amerika entnommen worden waren. Es konnten aus jeder Probe verschiedene Schimmelpilze isoliert werden. Dabei handelte es sich um Spezies der folgenden Gattungen und Gruppen: *Penicillium glaucum* (7), *Penicillium expansum* (11), *Apergillus glaucus* (6), *Aspergillus fumigatus* (5), *Aspergillus flavus* (9), *Aspergillus niger* (9), *Rhizopus nigricans* (6), *Fusarium* sp. (11), *Monascus purpureus* (3), *Mucor* sp. (5) und einige nicht bestimmte *Phycomyceten* (2). Die Zahl in Klammern gibt an, aus wieviel der 19 Proben die Schimmelpilze zu isolieren waren. Angaben zur Methode wurden nicht gemacht. Versuche, die Gesundheit verschiedener Tiere (Pferde, Rinder, Schafe) durch Fütterung von verschimmeltem Futter zu beeinflussen, blieben ohne Erfolg. Dennoch werden Schimmelpilze in Futtersilage für nicht ungefährlich gehalten.

Es ist bekannt, daß Heu, wenn es feuchter Wärme ausgesetzt ist, außerordentlich schnell verschimmelt (ROLLE und KOLB 1954). Eine ganze Reihe von Autoren sieht daher diese Futterart als Hauptursache für die Besiedlung des Magen-Darmtraktes mit Schimmelpilzen an, und es liegen darüber Untersuchungsergebnisse vor.

ROLLE und KOLB 1954 konnten in verschiedenen Heuproben besonders häufig *Absidia ramosa*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* sowie *Mucor pusillus*, *Aspergillus glaucus* und *Scopulariopsis brevicaulis* nachweisen. Zu dem

gleichen Ergebnis kommen auch AINSWORTH und AUSTWICK 1955a, die neben den erwähnten noch viel Penicillienarten sowie *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus terreus*, *Aspergillus candidus* und *Absidia corymbifera* nebst einigen anderen aus Futterproben isoliert haben. Das Ergebnis stützt sich hier aber nicht nur auf Heuproben, sondern auch auf Proben von getrockneten Gras-pellets und Schweineschrot, aber die Verfasser weisen darauf hin, daß besonders die als pathogen angesehenen Pilze zu etwa 65 % aus dem Heu stammen.

Angaben über die Anzahl von Pilzen im Heu verschiedener Qualität finden sich bei LACEY, J. und LACEY, M.E. 1964, die über 1,5 Millionen Ascomycetes und 0,75 Millionen Schimmelpilze pro Gramm Trockengewicht in gutem Heu vorfanden. Es überragten *Mucor*- und *Aspergillus*-Arten. GREGORY und LACEY 1963a untersuchten auch verschimmeltertes Heu und fanden in diesem zwischen 5 und 25 Millionen Sporen / g Trockengewicht, während gutes Heu nur bis 3 Millionen Sporen / g Trockengew. enthielt. Beide Untersuchungen stützen sich auf Versuche mit dem 'Cascade-Impactor' (MAY 1945) und dem 'Andersen Sampler' (ANDERSEN 1958). Die gleichen Autoren (GREGORY und LACEY 1963b) brachten auch Heu verschiedener Qualität in einen Windtunnel bei Windgeschwindigkeiten bis zu 4,9 m / sec. und setzten bis zu 110 Millionen Sporen / g Trockengew. frei, die sie auf die gleiche Weise zählten. Bei beiden Versuchen waren besonders stark Gruppen der Gattung *Aspergillus* wie *A. fumigatus*, *A. glaucus*, *A. nidulans*, *Penicillium*-, *Absidia*- und *Mucor*arten sowie Vertreter der Gattungen *Cladosporium*, *Hemispora*, *Trichothecium*, *Cephalosporium* und *Humicola* vertreten.

Von den übrigen Futterarten ist das Getreide bei feuchter Lagerung bei niedriger Temperatur noch besonders stark schimmelpilzhaltig (KROGH und HASSELLAGER 1968, THOMKE 1967, TAINISH 1967). Sämtliche Trockenprodukte unter den Futtermitteln sind gefährdet, durch Verschimmelung zu verderben (MOSEL 1970).

Die Verluste, die besonders bei unsachgemäßer Lagerung des Getreides durch Verschimmeln entstehen, sind groß und lange bekannt (CHRISTENSEN 1957, TAINISH 1967). Verschimmelter Korn läßt sich nicht mehr völlig reinigen, hat einen niedrigeren Nährwert und möglicherweise vorhandene Mykotoxine lassen sich auch nicht mehr entfernen (MADSEN 1967, TAINISH 1967).

Eine zusammenfassende Arbeit über die Ursachen, die Schäden, die Einflüsse und die Zusammensetzung der Schimmelpilzflora im gelagerten Getreide stammt von CHRISTENSEN 1957. Er unterscheidet zwischen "Feldpilzen" und Lagerungspilzen". Erstere sind solche Pilze, die die Getreidekörner schon während des Wachstums befallen, letztere entwickeln sich erst bei der Lagerung unter feuchten Bedingungen. Es handelt sich dabei um mehr als 50 verschiedene Schimmelpilzarten, die sich mit der von CHRISTENSEN beschriebenen Methode züchten, isolieren und differenzieren lassen. Die Methode wurde bereits im Kapitel 'Methoden der quantitativen Bestimmung von Pilzen' ausführlich beschrieben. Bei den Schimmelpilzen, die die Getreidekörner schon während des Wachstums befallen, handelt es sich vornehmlich um Vertreter der Gattungen *Alternaria*, *Helminthosporium*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Diplodia*, *Chaetomium*, *Rhizopus* und *Absidia*. Durch diesen Befall wird die Lagerungsfähigkeit des Getreides stark herabgesetzt. Bei der Lagerung des Getreides entwickeln sich hauptsächlich Spezies der Gattung *Penicillium* und *Aspergillus*, die dann bei ungünstig gelagerten Futtermitteln den überwiegenden Anteil an der Pilzflora ausmachen. Um welche Gruppen und Arten dieser Gattung es sich handelt, ist besonders bei der Gattung *Aspergillus* stark von den äußeren Faktoren wie dem Feuchtigkeitsgrad abhängig.

Auch nach KROGH und HASSELLAGER 1963 gehören die Schimmelpilze der Gattung *Penicillium* und *Aspergillus* zu den im gelagerten Getreide am häufigsten vorkommenden Pilzen. GOLDMAN 1968 führt neben den im feuchten Getreide besonders häufig vorkommenden Schimmel-

pilzen der Gattungen *Mucor*, *Aspergillus* und *Penicillium* noch Vertreter der Gattungen *Fusarium* und *Cladosporium* auf, die von Bedeutung sind.

b) Schimmelpilze in der Stallluft

Pilze werden auch über die Luft verbreitet. Dabei ist in geschlossenen Räumen besonders in der Luft von Stallgebäuden die Konzentration an Pilzsporen und -mycel viel höher als in der Außenluft (AINSWORTH und AUSTWICK 1955 a, b). Eine qualitative und quantitative Untersuchung über die Anzahl und Zusammensetzung der Pilzsporen in der Stallluft ist nicht nur für Rückschlüsse auf Lungenmykosen bei stets in dieser Umgebung lebenden Tieren, sondern auch als Ursprung einer Besiedlung des Magen-Darmtraktes und der Faeces mit Schimmelpilzen von Bedeutung. Die Sporen werden durch die Unruhe der Tiere aus Futter und Streu aufgewirbelt und halten sich offensichtlich lange in der Luft (ROLLE und KOLB 1954), oder sie werden in besonders starkem Maße beim Füttern, d.h. besonders beim Aufschütteln von Heu oder Stroh, in die Luft gebracht (LACEY, J und LACEY, M.E. 1964; BARUAH 1961).

Zur Feststellung der Sporenkonzentration kann man sich verschiedener Methoden bedienen. Die einfachste Methode ist es, Petrischalen mit einem geeigneten Nährboden für einige Zeit der Luft im Stall auszusetzen und diese dann in den Brutschrank zu bringen (AINSWORTH und AUSTWICK 1955 a, b; ROLLE und KOLB 1954; DE VRIES 1960; BARUAH 1961), oder man benutzt Spezialgeräte wie z.B. die automatische volumetrische Sporenfalle von Hirst (HIRST 1952), den Cascade impactor (MAY 1945) oder den Sammler nach Andersen (ANDERSEN 1958).

LACEY, J. und LACEY, M.E. 1964 haben bei ihren Untersuchungen in verschiedenen Kuhställen in England sowohl während des Fütterns von schimmeligem Heu, wie man es im Laufe des Winters oft

bei der Tierfütterung antreffen kann, als auch während der Fütterungsruhe Geräte nach Andersen und May verwendet.

Die normale Sporenkonzentration außerhalb der Fütterungszeit hatte einen Wert von höchstens 8 Millionen Sporen / m^3 und bestand hauptsächlich aus Arten der Gattungen *Aspergillus* und *Mucor*. Dagegen stieg die Zahl bei der Fütterung von Heu und Stroh besonders beim Aufschütteln von schlechter schimmeliger Qualität auf einen Wert von 1 600 Millionen / m^3 gemessen an verschiedenen Orten des Stalles. In den darauf folgenden Minuten sank meist die Zahl um 90 %. Es handelte sich dabei um Sporen von *Aspergillus fumigatus*, *Absidia ramosa*, *Mucor pusillus* und *Aspergillus terreus*, wobei die Zahl und Häufigkeit in den einzelnen Farmen unterschiedlich ausfiel. Messungen in Ställen, in denen die Tiere in Laufboxen gehalten wurden, zeigten, daß hier der Gehalt an Pilzsporen viel größer ist.

BARUAH 1961 kam bei seinen ebenfalls in Ställen in England vorgenommenen Nachforschungen zu einem etwas anderen Ergebnis. Er wendete verschiedene Methoden an, und zwar die Methode nach Hirst (HIRST 1957), das Sammeln der Sporen auf mit Vaseline beschichteten Objekträgern und das einfache Öffnen von Nährböden enthaltenden Petrischalen für kurze Zeit. Er gibt den Sporengehalt der Außenluft gemessen 2 Meter über dem Boden mit über 100 000 Sporen / m^3 an. Im Stall hatte er zu unterschiedlichen Tageszeiten Werte von 95 000 bis 16 Millionen Sporen / m^3 erhalten, wobei wieder die höchste Konzentration beim Heufüttern eintrat. Gefunden wurden Teile von Hyphen und Konidiophoren neben Sporen hauptsächlich aus den Gattungen *Aspergillus*, *Penicillium* und *Mucor*.

Die von SHEERAMULU 1961 in Indien durchgeführten Untersuchungen lassen sich nicht mit den von LACEY, J. und LACEY, M.E. 1964 und BARUAH 1961 vergleichen, weil die Pilzsporenkonzentrationen in einem offenen Stall gemessen wurden. Er wandte die volumetrische Sporenfalle nach HIRST 1952 an. Eine Gesamtzahl der im

Stall nachgewiesenen Pilze wurde nicht angegeben, aber im einzelnen wies er 12 Gattungen nach. Dabei waren die Gattungen *Aspergillus* und *Penicillium* mit nur 3,2 % von der Gesamtmenge in dem offenen Stall beteiligt. *Fusarium* und *Cladosporium* nahmen den größten Prozentsatz ein, ihr Anteil betrug 75 %.

C. Eigene Untersuchungen

Eigene Untersuchungen sollten Auskunft geben über die in Faeces von Rind und Schwein zu erwartenden Gesamtschimmelpilzzahlen und die anteilmäßige Verteilung der vorkommenden Pilzgattungen. Dabei sollten vor allem die bei Fleischprodukten vorkommenden und zu erwartenden Gattungen *Penicillium* und *Aspergillus* berücksichtigt und die Pilze der Gattung *Aspergillus* bis zur Art differenziert werden.

I. Material

Zur Untersuchung gelangten 20 Kotproben vom Schwein und 20 Kotproben vom Rind. Das Material stammte von Tieren, die auf dem Gießener Schlachthof geschlachtet worden waren. Die Kotproben wurden gleich nach dem Schlachten und der Evisceration dem Enddarm der Tiere steril entnommen. Dabei kam es zu keiner besonderen Auswahl der Tiere, die Entnahme erfolgte stichprobenartig aus der Schlachtkette. Die Herkunft der Tiere wurde nicht überprüft.

Die Kotproben der Schweine stammten meist von 6 bis 9 Monate alten weiblichen und männlichen Tieren, einzelne von älteren Sauen und Ebern. Sie wurden ohne Berücksichtigung der Jahreszeit entnommen.

Bei den Rindern handelte es sich um ältere Kühe und etwa 1 1/2 Jahre alte Bullen. Die Kotproben von Rind 1 bis 10 stammten aus der Periode der auslaufenden Winterfütterung, die der Rinder 11 bis 20 aus der Periode der Weidefütterung. Mit der Durchführung der Untersuchung wurde etwa 1/2 Stunde nach Entnahme des Kotes begonnen.

II. Methodik

1. Kultivierung und Isolierung der Schimmelpilze

Zur quantitativen und qualitativen Bestimmung der im Kot der Schlachttiere enthaltenen Schimmelpilzelemente ist es nötig, diese, da sie in großer Zahl meist in Sporenform in den Faeces vorhanden sind, in bestimmten Verdünnungsstufen auf einem geeigneten Nährboden bei geeigneter Bebrütungstemperatur zum Wachsen zu bringen. Es muß die Gewähr gegeben sein, daß möglichst jede einzelne Spore oder jedes Hyphenteil, aus denen unter günstigen Bedingungen eine Pilzkolonie wachsen könnte, erfaßt und differenziert wird.

Jeweils 10 g Kot dienten als Ausgangsmaterial für das Anlegen einer Verdünnungsreihe. Das abgewogene Material wurde in ein Gemisch aus 69 ml steriler physiologischer Kochsalzlösung und 1 ml 1 %iger Natriumlaurylsulfonatlösung (NLS) gegeben. Das Gemisch wurde 1 Minute lang auf Stufe 1 im Waring Blendor bei etwa 12 000 Umdrehungen pro Minute homogenisiert. Die Zugabe von NLS diente der Benetzung der Sporen, damit sich diese gleichmäßig in der Suspension verteilten (RAPER und FENNELL 1965). Dieser Suspension wurden 20 ml Carboxymethylcellulose, ca 35-37 %, Flocken in 10 %iger Lösung zugegeben. Die Zugabe dauerte einige Minuten auf Grund des langsamen Ausfließens der Carboxymethylcellulose-Lösung (CMC). CMC diente der Viskositätserrhöhung und sorgte für eine weitgehend stabile Verteilung der Kotpartikel und der Schimmelpilzelemente in der Suspension. Es folgte erneutes Homogenisieren für 1 Minute im Waring Blendor auf Stufe 1. Das so angefertigte Homogenisat stellte eine Kotverdünnung von 1:10 dar.

Von dieser Verdünnungsstufe 1:10 ausgehend, wurden unter Verwendung eines Verdünnungsmediums aus physiologischer Kochsalzlösung mit 2 % CMC von den Kotproben in der Regel die Ver-

dünnungsstufe 1:100, 1:200, 1:1.000, 1:2.000, 1:5.000 und 1:10.000 angelegt. Nur bei zwei Proben (Schwein 9 und 10) war es notwendig geworden, auf Grund der sehr hohen Schimmelpilzzahlen weitere Verdünnungen anzulegen und zwar von 1:100.000, 1:200.000 bei Schwein 9 und bei Schwein 10 noch dazu die Verdünnungen 1:400.000 und 1:800.000. Diese sehr hohen Verdünnungen wurden erst einen Tag nach der Schlachtung der Tiere frisch hergestellt, nachdem es sich herausgestellt hatte, daß auf Grund des Wachstums in den bisher angelegten Verdünnungsstufen mit sehr hohen Schimmelpilzzahlen zu rechnen war. Die Kotproben befanden sich in der Zwischenzeit im Kühlschrank bei + 4°C.

Bei der Herstellung der Verdünnungsstufen erfolgte eine sorgsame Durchmischung durch Drehen des Verdünnungsröhrchens aus dem Handgelenk heraus 10 mal im Uhrzeigersinn und 10 mal im entgegengesetzten Uhrzeigersinn und anschließendem mehrmaligen schnellen Rollen des Röhrchens zwischen den beiden Handtellerflächen. Dazu kam anschließend 10maliges Aufsaugen und Auslaufenlassen der Pipette. Jeweils 1 ml jeder Verdünnungsstufe wurde in Petrischalen mit einer lichten Bodenweite von 10,5 cm nach erneutem Durchmischen in oben beschriebener Weise pipettiert. Darauf folgte die Zugabe von etwa 15 ml verflüssigtem ca. + 45°C warmen Nährmedium in jede Petrischale. Unmittelbar nach dem Gießen in die Petrischale wurde das Medium und der Anteil der jeweiligen Verdünnungsstufe durch 5-maliges Hin- und Herbewegen, 5 kreisende Bewegungen im Uhrzeigersinn, 5-maliges Hin- und Herbewegen im rechten Winkel zu der beim ersten Mal gewählten Richtung und 5 kreisende Bewegungen gegen den Uhrzeigersinn gemischt. Nach kurzem Abkühlen verfestigte sich das Medium, und die Petrischalen wurden mit dem Deckel nach unten in einen Brutschrank gegeben.

Als Nährmedium diente zur Erfassung der Gesamtschimmelpilzzahlen Malt-Agar (OXOID) plus 3 % Saccharose, pH 4,5. Ein Medium

in dieser Zusammensetzung mit dem erhöhten Kohlenhydratanteil und tiefem pH-Wert eignet sich nach Versuchen von HADLOK 1969b besonders gut für die Isolierung von Schimmelpilzen aus Mischkulturen mit Bakterien und Bazillen. Pro Verdünnungsstufe wurden jeweils 4 Parallelplatten des verwendeten Nährmediums angelegt.

Als Nährmedium zur Erfassung osmophiler Pilzarten besonders einiger Arten der Gattung *Aspergillus* bei weniger günstigen Wachstumsbedingungen für die Vertreter der Familie *Mucoraceae* fand ein Czapek-Dox-Agar (OXOID) plus 6 % NaCl, pH 4,5 Anwendung. Dieses Nährmedium hatte sich im Laufe von Paralleluntersuchungen mit einem Czapek-Dox-Medium (OXOID) plus 17 % Saccharose, pH 4,5 diesem als überlegen erwiesen. Das Wachstum der Pilze der Familie *Mucoraceae* wurde durch dieses Medium stärker gehemmt und das der Pilze der Gattung *Aspergillus* gleichmäßiger gefördert.

Das auf den beiden genannten Nährmedien auftretende Schimmelpilzwachstum wurde in unterschiedlicher Weise erfaßt und ausgewertet. Die Czapek-Dox-NaCl-Platten wurden nach 7tägiger Bebrütung bei $+ 25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ in der Weise ausgewertet, daß vornehmlich die osmophil wachsenden Stämme der Gattung *Aspergillus* direkt von den Platten in der weiter unten beschriebenen Weise differenziert wurden.

Die Petrischalen mit dem beimpften Malt-Agar wurden ebenfalls bei einer Temperatur von $+ 25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ bebrütet. Das Wachstum der Schimmelpilze wurde hier mehrmals täglich 7 Tage lang unter dem Plattenmikroskop Okular 18 mal Objektiv 1 mal überprüft. Jede durch Mycelwachstum charakterisierte Kolonie wurde aus dem Nährmedium der für die Erfassung des quantitativen Schimmelpilzgehaltes günstigen Verdünnungsstufen unter dem Plattenmikroskop mit feinen Nadeln aus 3 Parallelplatten ausgestochen und zur Weiterzüchtung und Differenzierung auf Malt-Schrägar-

röhrchen gebracht. Die 4. Parallelplatte verblieb zur Kontrolle bis zum Ende der Bebrütungszeit im Brutschrank und wurde dann erst ergänzend bewertet. Als Medium für die Schrägröhrchen diente ein Malt-Extrakt-Agar (OXOID) mit einem Zusatz von 3 % Saccharose. Die Schrägagarröhrchen wurden bei Zimmertemperaturen gelagert, und das Wachstum der in diese verbrachten Pilzkolonien wurde alle 24 Stunden überprüft.

2. Differenzierung der Schimmelpilze

Die auf dem Czapek-Dox-Agar gewachsenden Pilzkolonien wurden 7 Tage nach der Beimpfung ausgewertet. Es erfolgte eine quantitative Bestimmung der zur Gattung *Aspergillus* gehörenden Pilze und deren Differenzierung bis zur Art auf Grund der makroskopisch und mikroskopisch erkennbaren Merkmale.

Die auf dem Malt-Extrakt-Agar gewachsenen und nach dem Ausstechen in Malt-Schrägagarröhrchen verbrachten Pilzkolonien wurden bei Zimmertemperaturen weitergezüchtet und nach Fruchtkörperbildung mit Hilfe der Stichbeimpfung je nach Pilzgattung oder -gruppe auf Czapek-Dox-Agar (OXOID) mit 3 % und / oder 20 % Saccharose in Petrischalen mit einer lichten Bodenweite von 8,5 cm übertragen. 7 bis 14 Tage, zum Teil auch länger, bei $+ 25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ im Brutschrank belassen und danach differenziert. Dabei wurden die makroskopischen Kulturmerkmale wie die mikroskopisch darstellbaren Pilzelemente nach Anfertigung von Objektträgerpräparaten (v. ARX 1967) oder wenn erforderlich Objektträgerkulturen (RIDDELL 1950) mit Hilfe von einem Plattenmikroskop und einem Mikroskop mit Ölimmersion festgestellt und in Datentabellen aufgenommen. Bei der Anfertigung von Objektträgerpräparaten wurde für die Darstellung der morphologischen Bestandteile der Stämme der Gattungen *Penicillium* und *Aspergillus* Lactophenol benutzt, während für die Untersuchung der Pilzelemente

der Vertreter der Reihe Mucorales Wasser verwendet wurde.

Die Differenzierung erfolgte an Hand des Gattungsschlüssels nach v.ARX 1967. Die weitere Bestimmung bis zur Art wurde mit Hilfe von international anerkannten taxonomischen Werken unter Berücksichtigung später erschienener Neubeschreibungen von Pilzarten durchgeführt. Für die wegen ihrer Bedeutung bei Fleisch- und Fleischerzeugnissen untersuchten und bis zur Art differenzierten Stämme der Gattung *Aspergillus* dienten hier neben dem Standardwerk von RAPER und FENNELL 1965 die folgenden im Literaturverzeichnis aufgeführten Arbeiten von CHRISTENSEN, LOPEZ und BENJAMIN 1965, HADLOK und STOLK 1969, KAMYSCHKO 1963, PANASENKO 1964, RIDGWAY 1912, SARBHOY und ELPHICK 1968 und STATES und CHRISTENSEN 1966.

Die Auswertung der morphologischen Merkmale erfolgte nach RAPER und FENNELL 1965 mit Hilfe von zwei Gruppenschlüsseln, die auf zwei verschiedenen Wegen zur Artdiagnose führen:

- 1) Vorwiegende Berücksichtigung der Morphologie,
- 2) vorwiegende Berücksichtigung der Farbe.

Häufig erweist es sich als angebracht, beide Schlüssel heranzuziehen.

3. Bestimmung des Trockengewichts von Kot

Zusammensetzung und Konsistenz des Kotes der Schlachttiere sind von verschiedenen Faktoren abhängig und variieren stark. Auch der Wassergehalt ist Schwankungen unterworfen. Zur Ermittlung einer konstanten Bezugsgröße für die quantitativen Angaben des Gehaltes an Schimmelpilzen wurde bei den eigenen Untersuchungen die Berechnung der Zahl der Schimmelpilze pro Gramm Trockenmasse Kot durchgeführt.

Die Wasserbestimmung erfolgte mit Hilfe der Sandschalenmethode. Von jeder Probe wurde eine Doppelbestimmung durchgeführt. Dabei wurden je 5 g Untersuchungsmaterial abgewogen und in einer Schale mit etwa 60 g reinem Seesand fein zerrieben. Dieses Material wurde 3 Stunden in einem Trockenschrank bei + 100 bis 105°C belassen und kam danach für etwa eine Stunde zum Abkühlen in einen Exsiccator. Hierauf erfolgte eine erneute Wägung. Aus der Gewichts Differenz des Kotanteils vor und nach der Trocknung ergab sich der Anteil an Wasser im Kot, und die Angabe des Trockengewichts in Prozenten war möglich. In Vorversuchen war abgeklärt worden, daß die gewählte Trocknungszeit und -temperatur zur Gewichtskonstanz führten.

III. Ergebnisse

1. Gesamtzahl der Schimmelpilze und Aufteilung nach Gattungen

In allen untersuchten Kotproben von 20 Schweinen und 20 Rindern konnten Schimmelpilze in unterschiedlicher Menge festgestellt werden.

Eine übersichtliche Darstellung der Anzahl der aus den einzelnen Kotproben isolierten Schimmelpilze, ihre Aufteilung in Gattungen sowie der Anteil einzelner Gruppen und Arten wird nachfolgend mit Hilfe von Tabellen gegeben.

Zur Ermittlung einer konstanten Bezugsgröße für alle quantitativen Angaben wurde bei allen Kotproben eine Bestimmung des Trockengewichts durchgeführt. Darauf erfolgte die Berechnung der Schimmelpilze insgesamt sowie der Anteil der Gattungen, Gruppen und Arten stets als Anzahl pro Gramm Trockenmasse Kot.

In den Kotproben von **S c h w e i n e n** wurde ein durchschnittlicher Trockengewichtsanteil von 23,1 % ermittelt, wobei die Werte bei den einzelnen Tieren zwischen 14,5 % (Schwein 11) und 29,4 % (Schwein 14) schwankten. Erheblich niedriger lag der durchschnittliche Trockengewichtsanteil bei den untersuchten Kotproben von **R i n d e r n**. Hier müssen auf Grund der unterschiedlichen Beschaffenheit der Faeces in Abhängigkeit von der Winter- und Sommerfütterung die Kotproben von den im Winter geschlachteten Rindern 1 bis 10 getrennt von den im Sommer geschlachteten Rindern 11 bis 20 betrachtet werden. Der Anteil des Trockengewichts des Kotes im Winter lag zwischen 13,4 % (Rind 7) und 22,0 % (Rind 1) und betrug im Durchschnitt 16,1 %. Geringer war dagegen der durchschnittliche Trockengewichtsanteil im Sommer mit einem Wert von 13,4 % bei Schwankungen von 9,5 % (Rind 15) bis 16,2 % (Rind 11).

a) Schwein

Die bei den Untersuchungen der Kotproben vom S c h w e i n erzielten Ergebnisse sind in den Tabellen Ia und Ib dargestellt. In diesen Tabellen sind für jedes der 20 untersuchten Schweine jeweils die ermittelten Gesamtzahlen der Schimmelpilze pro Gramm Trockenmasse Kot sowie Gesamtzahlen aufgegliedert nach den vorwiegend vertretenen Gattungen *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Absidia*, *Geotrichum* und den übrigen Gattungen zusammengefaßt unter 'verschiedene Genera' aufgeführt. Aus den Ergebnissen ist ersichtlich, daß die Gesamtschimmelpilzzahlen in einem Bereich von 4 Zehnerpotenzen zwischen rund 7.000 und 77,3 Millionen schwankten, wobei der Mittelwert bei rund 7,8 Millionen lag. Die nachgewiesenen Zahlen für die Gattung *Penicillium* lagen zwischen 0 und etwa 1 Million bei einem Mittelwert von 140.000. An Pilzen der Gattung *Aspergillus* wurden zwischen 0 und 22,8 Millionen bei einem Mittelwert von 1,3 Millionen nachgewiesen. Die Zahlen für die Gattung *Mucor* lagen zwischen 0 und etwa 76 Millionen bei einem Mittelwert von rund 6,2 Millionen. Die Gattung *Absidia* war mit Pilzzahlen von 0 bis rund 1 Million vertreten bei einem Mittelwert von rund 60.000. Bei der Gattung *Geotrichum* lagen die Pilzzahlen zwischen 0 und rund 110.000 bei einem Mittelwert von rund 9.000. Weiterhin waren zwischen 0 und 40.000 Pilze verschiedener Genera bei den einzelnen Tieren vorhanden, wobei der Mittelwert bei rund 4.000 lag. Bei den unter 'verschiedene Genera' zusammengefaßten Gattungen handelte es sich besonders um *Cladosporium* (Schwein 4, 14, 15, 18, 20), *Paecilomyces* (Schwein 1) und *Fusarium* (Schwein 13, 14). Aus der Tabelle ist ebenfalls ersichtlich, daß die Gattungen *Penicillium* und *Aspergillus* regelmäßig mit jeweils einer Ausnahme vorkamen.

Tabelle Ia:

Schimmelpilze pro Gramm Trockenmasse Kot(gTM)(Schwein)

Schwein Nr.	Gesamt- zahl	Gesamtzahl nach Gattungen					Geotrichum	versch. Genera
		Penicillium	Aspergillus	Mucor	Absidia			
1	87.600	4.000	31.000	5.100	45.200	-	-	2.300
2	62.100	-	45.000	-	6.500	6.600	6.600	4.000
3	14.600	6.000	2.900	4.700	600	300	300	100
4	9.500	1.500	-	5.500	-	-	-	2.500
5	11.100	600	7.400	-	2.900	-	-	200
6	52.000	3.000	18.400	24.000	6.600	-	-	-
7	57.900	7.700	6.000	36.600	6.800	-	-	800
8	7.400	2.000	4.100	400	700	-	-	200
9	25.499.300	351.900	234.600	24.912.800	-	-	-	-
10	77.305.700	417.500	834.900	76.053.300	-	-	-	-

Tabelle Ib: Schimmelpilzzahlen pro Gramm Trockenmasse (gTM) (Schwein)

Schwein Nr.	Gesamtzahl	Gesamtzahl nach Gattungen					versch. Genera
		Penicillium	Aspergillus	Mucor	Absidia	Geotrichum	
11	174.500	19.100	32.800	3.000	4.600	112.000	3.000
12	18.137.900	816.200	1.307.700	15.850.700	163.300	-	-
13	641.100	49.400	387.100	130.400	13.200	23.200	37.800
14	1.000.000	9.100	256.700	716.100	10.800	-	7.300
15	133.700	1.800	127.700	1.800	-	-	2.400
16	61.700	1.000	53.700	-	-	6.400	600
17	31.141.900	1.037.000	22.839.500	6.228.400	1.037.000	-	-
18	831.300	18.300	155.300	621.200	-	27.400	9.100
19	22.600	1.500	21.100	-	-	-	-
20	17.100	900	16.000	100	-	-	100

Der Anteil der nachgewiesenen Schimmelpilzgattungen an der Gesamtschimmelpilzzahl im Kot eines jeden untersuchten Schweines wird durch die Tabellen IIa und IIb verdeutlicht. In diesen Tabellen, die den gleichen Aufbau wie die Tabellen Ia und Ib aufweisen, sind die zahlenmäßigen Anteile der einzelnen Gattungen an der Gesamtschimmelpilzzahl prozentual dargestellt. Aus diesen Tabellen ist ersichtlich, daß die Gattung *Penicillium* sowie die unter 'verschiedene Genera' zusammengefaßten Pilzgattungen nie mehr als 50 % an der Gesamtschimmelpilzzahl ausmachten; in 15 von 20 Fällen betrug ihr Anteil nur bis zu 10 % von der Gesamtschimmelpilzzahl. Auch die Gattung *Absidia* und *Geotrichum* stellten in der Überwiegenden Zahl der Fälle nur bis zu 10 % der Gesamtschimmelpilzflora und jeweils nur in einem Falle über 50 %. Deutlich dagegen war die Dominanz der Gattung *Aspergillus*, die in 9 Fällen über 50 % der Gesamtschimmelpilzzahlen stellte, in 3 Fällen lag der Wert sogar bei rund 90 %. Ähnlich stellte sich die Häufigkeit der Gattung *Mucor* dar, bei der in 8 Fällen der Anteil bei über 50 % lag, wobei in zwei Fällen ein Maximum von rund 96 % erreicht wurde.

Tabelle IIa: Schimmelpilzzahlen /g TM Kot und Aufteilung nach Gattungen (Schwein)
in Prozenten

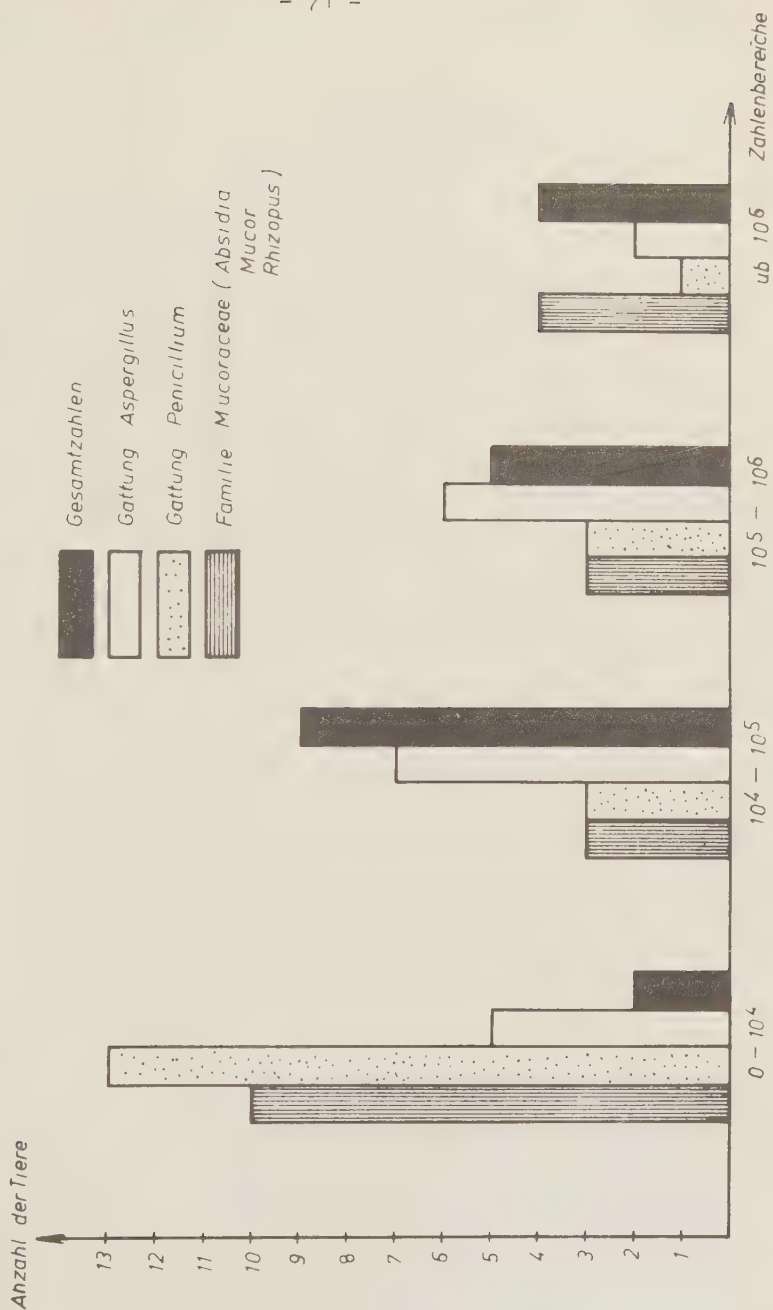
Schwein Nr.	Gesamt- zahl = 100 %	Aufteilung nach Gattungen in Prozenten					versch. Genera
		Penicillium	Aspergillus	Mucor	Absidia	Geotrichum	
1	87.600	4,5	35,3	5,9	51,6	-	2,7
2	62.100	-	72,4	-	10,5	10,6	6,5
3	14.600	41,2	19,6	32,4	4,1	2,0	0,7
4	9.500	15,8	-	57,9	-	-	26,3
5	11.100	5,6	66,7	-	25,9	-	1,8
6	52.000	5,8	35,3	46,2	12,7	-	-
7	57.900	13,2	10,3	63,2	11,8	-	1,5
8	7.400	26,5	55,9	5,9	8,8	-	2,9
9	25.499.300	0,9	1,4	97,7	-	-	-
10	77.305.700	0,5	1,1	98,4	-	-	-

Tabelle IIb: Schimmelpilze / g TM Kot und Aufteilung nach Gattungen (Schwein)
in Prozenten

Schwein Nr.	Gesamt- zahl = 100 %	Aufteilung nach Gattungen in Prozenten					versch. Genera
		Penicillium	Aspergillus	Mucor	Absidia	Geotrichum	
11	174.500	10,9	18,8	1,8	2,6	64,1	1,8
12	18.137.900	4,5	7,2	87,4	0,9	-	-
13	641.100	7,7	60,4	20,4	2,0	3,8	5,7
14	1.000.000	0,9	25,7	71,6	1,1	-	0,7
15	133.700	1,3	95,6	1,3	-	-	1,8
16	61.700	1,5	87,1	-	-	10,5	0,9
17	31.141.900	3,3	73,4	20,0	3,3	-	-
18	831.300	2,2	18,7	74,7	-	3,3	1,1
19	22.600	6,7	93,3	-	-	-	-
20	17.100	5,0	93,8	0,6	-	-	0,6

Die Tabelle III vermittelt mit der graphischen Darstellung einen optischen Eindruck von der zahlenmäßigen Verteilung der bei 20 Schweinen gefundenen Gesamtschimmelpilzzahlen sowie der Zahlen der Gattungen *Aspergillus* und *Penicillium* und der Familie *Mucoraceae* mit den Gattungen *Absidia*, *Mucor* und *Rhizopus*. Aus dieser Tabelle ist ersichtlich, bei welcher Anzahl von Tieren die Pilze in den Potenzbereichen von 0 bis 10^4 , 10^4 bis 10^5 , 10^5 bis 10^6 oder über 10^6 vorkamen. So ist zu ersehen, daß 18 Tiere mit ihren Gesamtschimmelpilzzahlen über 10^4 lagen. Die Pilze der Gattung *Penicillium* und der Familie *Mucoraceae* kamen bei der Überzahl der Tiere im Potenzbereich bis 10^4 vor, während die Gattung *Aspergillus* bei der Mehrzahl der Tiere in einem höheren Potenzbereich hauptsächlich in den Bereichen 10^4 bis 10^5 und 10^5 bis 10^6 vertreten war.

Tabelle III : Verteilung der Pilzzahlen in 20 Kotproben vom Schwein



b) Rind

Die erzielten Ergebnisse der Untersuchungen der Kotproben vom R i n d sind in den Tabellen IVa und IVb zusammengestellt. Auch bei dieser Tierart wurden hier die ermittelten Gesamtzahlen der Schimmelpilze pro Gramm Trockenmasse Kot für jedes der 20 untersuchten Rinder sowie die Gesamtzahlen aufgegliedert nach den hauptsächlich vertretenen Gattungen *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Absidia*, *Geotrichum* und den übrigen Gattungen zusammengefaßt unter 'verschiedene Genera' aufgeführt.

Bei der äußeren Beschaffenheit der Faeces der im Winter und im Sommer untersuchten Rinder ließen sich Unterschiede besonders in der Konsistenz und im Trockengewicht feststellen. Bei den in Tabellen IVa aufgeführten Rindern 1 bis 10 handelt es sich um die im Winter geschlachteten Tiere. Aus den Ergebnissen ist ersichtlich, daß die Gesamtschimmelpilzzahlen in einem Bereich von 3 Zehnerpotenzen lagen. Es konnten zwischen rund 9.000 und 4,9 Millionen Pilze pro Gramm Trockenmasse gefunden werden, wobei der Mittelwert bei rund 740.000 lag. Pilze der Gattung *Penicillium* kamen in einer Menge von rund 1.000 bis 700.000 bei einem Mittelwert von rund 150.000 vor. Aus der Tabelle ist weiterhin ersichtlich, daß die Zahlen für die Gattung *Aspergillus* zwischen rund 5.000 und 860.000 schwankten, woraus sich ein Mittelwert von rund 140.000 ergab. An Pilzen der Gattung *Mucor* wurden zwischen 0 und rund 380.000 bei einem Mittelwert von rund 40.000 nachgewiesen. Die Zahlen für die Gattung *Absidia* lagen zwischen 0 und rund 3,5 Millionen bei einem Mittelwert von etwa 400.000. Bei der Gattung *Geotrichum* lagen die Pilzzahlen zwischen 0 und rund 30.000 bei einem Mittelwert von rund 5.000, während die Pilze der übrigen Gattungen zusammengefaßt unter 'verschiedene Genera' in einer Menge von rund 100 bis 14.000 mit einem Mittelwert von etwa 4.000 vorkamen. Bei den übrigen Gattungen handelte es sich besonders um Schimmelpilze der Gattungen *Paecilomyces* (Rind 5, 6, 8, 9), *Cladosporium* (Rind 1, 5, 6, 9) und *Rhizopus* (Rind 2, 4) sowie um Pilze der Reihe *Sphaeropsidales* (Rind 5). Aus der Tabelle ist weiterhin ersichtlich, daß die Gattungen *Penicillium* und *Aspergillus* in allen Kotproben und die Gattung *Absidia* in 9 von 10 Proben vorkamen.

Tabelle IVa: Schimmelpilzzahlen pro Gramm Trockenmasse Kot(gTM)(Rind - Winter)

Rind Nr.	Gesamt- zahl	Gesamtzahl nach Gattungen				Geotrichum	versch. Genera
		Penicillium	Aspergillus	Mucor	Absidia		
1	89.000	13.500	16.900	-	58.500	50	50
2	4.894.000	155.200	859.000	379.800	3.485.800	-	14.200
3	9.100	1.200	5.400	-	800	-	1.700
4	549.700	9.700	90.200	15.100	428.700	4.800	1.200
5	190.700	3.300	177.600	-	4.900	1.600	3.300
6	29.900	4.000	20.000	-	1.100	-	4.800
7	812.500	699.800	38.000	-	54.700	18.000	2.000
8	688.200	585.500	70.900	1.100	-	27.600	3.100
9	25.700	1.000	13.000	800	5.400	500	5.000
10	81.700	5.300	65.400	300	7.200	300	3.200

Bei den in Tabelle IVb aufgeführten Rindern 11 bis 20 handelt es sich um die im Sommer geschlachteten Tiere. Aus den Ergebnissen ist ersichtlich, daß die Kotproben weniger Schimmelpilze enthielten als die Kotproben der im Winter geschlachteten Tiere und daß die gefundenen Gesamtschimmelpilzzahlen pro Gramm Trockenmasse nur in einem Bereich von 2 Zehnerpotenzen zwischen rund 4.000 und knapp 100.000 schwankten, wobei der Mittelwert bei rund 30.000 lag. Die nachgewiesenen Zahlen für die Gattung *Penicillium* lagen zwischen 0 und rund 10.000 bei einem Mittelwert von etwa 7.000. Bei der Gattung *Aspergillus* lagen die Zahlen zwischen rund 2.000 und 60.000 bei einem Mittelwert von etwa 10.000. Die Gattung *Mucor* war mit Pilzzahlen von rund 100 bis 5.000 vertreten, wobei der Mittelwert bei rund 2.000 lag. Es ist aus der Tabelle ersichtlich, daß die Gattungen *Aspergillus* und *Mucor* bei allen untersuchten Kotproben vorkamen. An Pilzen der Gattung *Absidia* wurden zwischen 0 und rund 6.000 bei einem Mittelwert von etwa 1.000 gefunden. Die Zahlen für die Gattung *Geotrichum* lagen zwischen 0 und rund 30.000, woraus sich ein Mittelwert von etwa 9.000 ergab. Es wurden weiterhin noch Pilze anderer Gattungen gefunden, die zusammengefaßt unter 'verschiedene Genera' in einer Menge von rund 800 bis 15.000 vorkamen. Der Mittelwert betrug etwa 5.000. Dabei handelte es sich vornehmlich um die Gattungen *Cladosporium* (Rind 11, 12, 13, 14, 15, 17, 18, 20), *Trichothecium* (Rind 12, 14, 20), *Fusarium* (Rind 12, 14) und *Paecilomyces* (Rind 20).

Tabelle IVb: Schimmelpilzzahlen pro Gramm Trockenmasse Kot (g_{TM}) (Rind - Sommer)

Rind Nr.	Gesamtzahl	Gesamtzahl nach Gattungen					versch. Genera
		Penicillium	Aspergillus	Mucor	Absidia	Geotrichum	
11	53.600	3.300	7.700	900	-	26.800	14.900
12	33.400	10.200	9.200	4.000	1.900	4.400	3.700
13	7.100	-	3.800	200	1.800	-	1.300
14	34.200	-	23.000	5.300	-	-	5.900
15	43.000	2.100	9.700	1.400	-	20.100	9.700
16	4.200	900	2.400	100	-	-	800
17	16.500	1.700	3.500	3.300	6.300	-	1.700
18	97.700	-	58.300	1.600	-	31.300	6.300
19	41.300	2.000	24.600	3.200	2.000	7.700	1.800
20	8.000	.900	1.900	2.200	200	900	1.900

Der Anteil der nachgewiesenen Schimmelpilzgattungen an der Gesamtpilzzahl im Kot eines jeden untersuchten Rindes wird durch die Tabellen Va und Vb verdeutlicht. Die Tabellen weisen den gleichen Aufbau wie die Tabellen IVa und IVb auf. Die zahlenmäßigen Anteile der einzelnen Gattungen an der Gesamtschimmelpilzzahl sind hier prozentual dargestellt.

Bei den in der Tabelle Va aufgeführten Rindern 1 bis 10 handelt es sich um die im Winter geschlachteten Tiere. Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß die Pilze der Gattung *Penicillium* bei der Hälfte der untersuchten Kotproben nur mit einem Anteil von bis zu 10 % an der Gesamtschimmelpilzflora beteiligt waren. Nur in zwei Fällen betrug ihr Anteil mehr als 80 %. Die Gattungen *Mucor* und *Geotrichum* waren stets mit weniger als 10 % beteiligt. Die unter 'verschiedene Genera' zusammengefaßten Pilzgattungen stellten nur in drei Fällen mehr als 10 %, nämlich etwa 20 % der Gesamtpilzzahlen. Der Anteil der Gattung *Absidia* betrug in den meisten Fällen weniger als 50 %, in drei Kotproben waren mehr als die Hälfte der vorhandenen Schimmelpilze Vertreter dieser Gattung. Deutlich ist aus der Tabelle die Dominanz der Gattung *Aspergillus* zu ersehen. Bei 5 der 10 untersuchten Proben betrug ihr Anteil mehr als 50 % und nur in einem Fall weniger als 10 %.

Bei den in der Tabelle Vb aufgeführten Rindern 11 bis 20 handelt es sich um die im Sommer geschlachteten Tiere. Aus der Tabelle ist die noch stärkere Dominanz der Gattung *Aspergillus* im Sommer ersichtlich. Hier waren niemals weniger als 10 % aller vorhandenen Pilze Vertreter der Gattung *Aspergillus*. Ihr Anteil betrug bei fünf der Proben 10 bis 30 %, bei den anderen fünf 50 bis 70 %. Pilze der Gattungen *Penicillium*, *Mucor*, *Absidia* sowie die unter 'verschiedene Genera' zusammengefaßten Gattungen stellten niemals, Pilze der Gattung *Geotrichum* nur in einem Fall 50 % aller vorhandenen Schimmelpilze. Der Anteil der Gattungen *Penicillium*, *Mucor* und *Absidia* an der Gesamtschimmelpilzflora betrug in den meisten Fällen jeweils nur bis zu 10 %.

Tabelle Va: Schimmelpilze / g TM und Aufteilung nach Gattungen (Rind - Winter)
in Prozenten

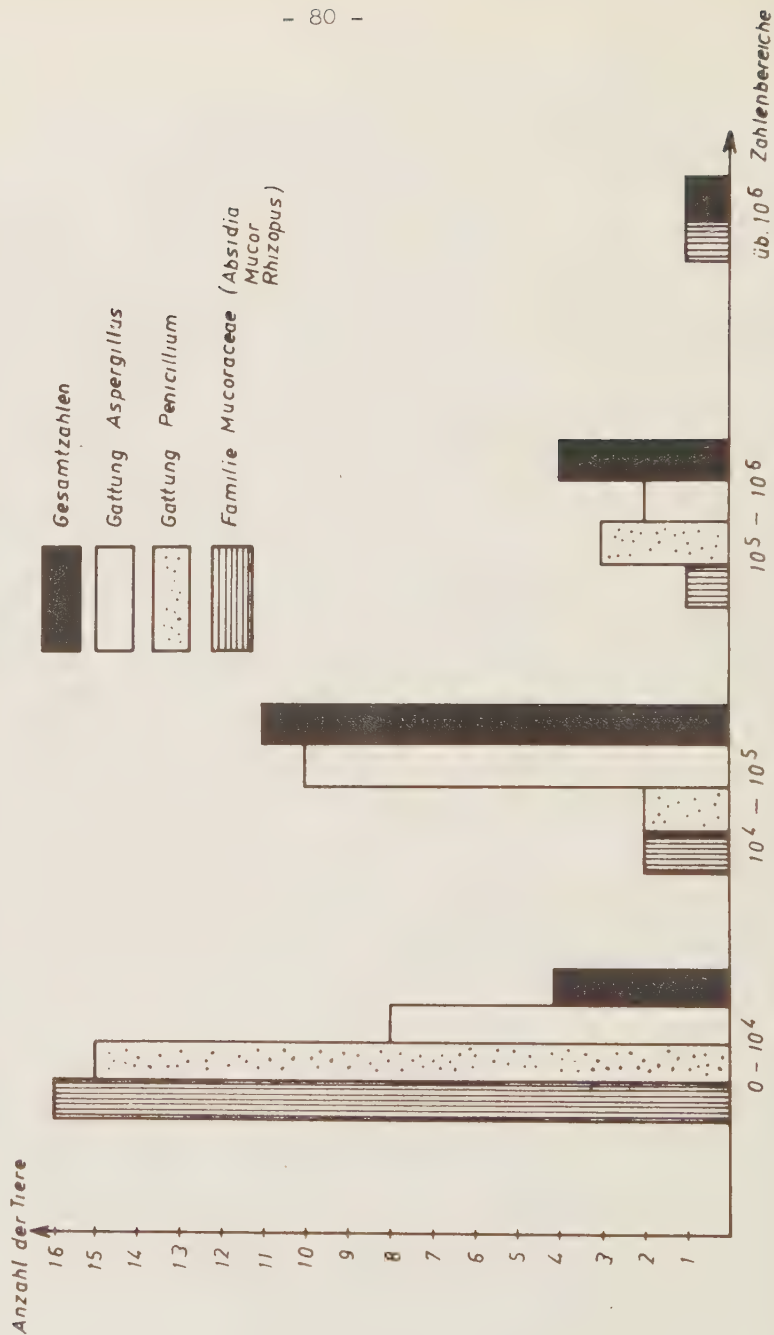
Rind Nr.	Gesamt- zahl = 100 %	Penicillium	Aspergillus	Mucor	Absidia	Geotrichum	versch. Genera
1	89.000	15,2	19,0	-	65,6	0,1	0,1
2	4.894.000	3,2	17,6	7,7	71,2	-	0,3
3	9.100	12,7	60,0	-	9,1	-	18,2
4	549.700	1,7	16,4	2,8	78,0	0,9	0,2
5	190.700	1,7	93,2	-	2,6	0,8	1,7
6	29.900	13,2	67,0	-	3,8	-	16,0
7	812.500	86,1	4,7	-	6,8	2,2	0,2
8	688.200	85,1	10,3	0,2	-	4,0	0,4
9	25.700	4,1	50,5	3,0	21,2	1,9	19,3
10	81.700	6,5	80,0	0,4	8,8	0,4	3,9

Tabelle Vb: Schimmelpilzzahlen / g TM und Aufteilung nach Gattungen (Rind - Sommer)
in Prozenten

Rind Nr.	Gesamt- zahl = 100 %	Aufteilung nach Gattungen in Prozenten					versch. Genera
		Penicillium	Aspergillus	Mucor	Absidia	Geotrichum	
11	53.600	6,2	14,3	1,7	-	50,0	27,8
12	33.400	30,5	27,8	12,0	5,6	13,0	11,1
13	7.100	-	53,1	3,1	25,0	-	18,8
14	34.200	-	67,2	15,6	-	-	17,2
15	43.200	4,8	22,6	3,2	-	46,8	22,6
16	4.200	21,4	57,1	3,6	-	-	17,9
17	16.500	10,5	21,1	19,7	38,2	-	10,5
18	97.700	-	59,7	1,6	-	32,3	6,4
19	41.300	4,7	59,8	7,8	4,7	18,7	4,3
20	8.000	11,3	23,9	26,8	2,8	11,3	23,9

Die Tabelle VI vermittelt einen optischen Eindruck von der zahlenmäßigen Verteilung der bei 20 Rindern gefundenen Gesamtschimmelpilzzahlen sowie der Zahlen der Gattung *Aspergillus* und *Penicillium* und der Familie *Mucoraceae* mit den Gattungen *Absidia*, *Mucor* und *Rhizopus*. Genau wie bei den Kotproben von den Schweinen wurde hier graphisch dargestellt, bei welcher Anzahl von Tieren die Pilze in den Potenzbereichen von 0 bis 10^4 , 10^4 bis 10^5 , 10^5 bis 10^6 und im Bereich über 10^6 vorkamen. In dieser Tabelle wurden die Ergebnisse der Untersuchungen im Winter wie im Sommer berücksichtigt. Bei dieser Tierart lagen die Gesamtschimmelpilzzahlen bei der Mehrzahl der Kotproben im Bereich von 10^4 bis 10^5 . Auch die Gattung *Aspergillus* war bei 10 der 20 Proben mit Schimmelpilzzahlen in diesem Potenzbereich vertreten. Die Gattung *Penicillium* und die Familie *Mucoraceae* dagegen war meist im niedrigeren Potenzbereich von 0 bis 10^4 anzutreffen. Aus der graphischen Darstellung ist auch ersichtlich, daß in einem Fall die Gesamtzahlen der gefundenen Pilze der Familie *Mucoraceae* in dem Bereich über 10^6 lagen.

Tabelle VI: Verteilung der Pilzsporen in 20 Kotproben vom Rind



Die Unterschiede, die in der quantitativen und qualitativen Zusammensetzung der Schimmelpilzflora in den Faeces von Rindern im Winter und im Sommer zu finden waren, sind aus den graphischen Darstellungen in den Tabellen VII und VIII zu ersehen.

Die Tabelle VII soll einen optischen Eindruck von der zahlenmäßigen Verteilung der Gesamtschimmelpilzzahlen im Winter und im Sommer vermitteln. Aus der Tabelle ist die Anzahl der Tiere zu ersehen, bei der die Pilze in den Potenzbereichen 0 bis 10^4 , 10^4 bis 10^5 , 10^5 bis 10^6 und über 10^6 vorkamen. Es zeigt sich klar, daß im Sommer die Schimmelpilze nur in den Potenzbereichen von 0 bis 10^4 und 10^4 bis 10^5 , meist im Bereich 10^4 bis 10^5 vorkamen, während nur bei der Hälfte der im Winter untersuchten Kotproben die Pilze in diesen niedrigen Bereichen lagen.

Tabelle VIII vermittelt einen Eindruck über die qualitative Zusammensetzung der Schimmelpilzflora zu den verschiedenen Jahreszeiten. Hier wird der Anteil der hauptsächlich vertretenen Gattungen *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Absidia* und *Geotrichum* sowie aller übrigen Gattungen, zusammengefaßt unter 'verschiedene Genera', graphisch durch Kreissegmente wiedergegeben. Dabei richtete sich die Größe der Kreissegmente nach dem Quotienten aus dem Kreisumfang von $360^\circ = 100\%$ und dem jeweiligen prozentualen Anteil der Gattungen. Es ist zu ersehen, daß die Gattung *Aspergillus* und besonders im Winter auch die Gattung *Penicillium* mit einem starken Anteil an der Gesamtschimmelpilzflora beteiligt waren. Im Winter war die Gattung *Absidia* stark vertreten, während im Sommer die Gattung *Mucor* und *Geotrichum* mehr in den Vordergrund trat.

Tabelle VII : Gegenüberstellung : Winter / Sommer
Verteilung der Pilzsporen in je 10 Kotproben vom Rind

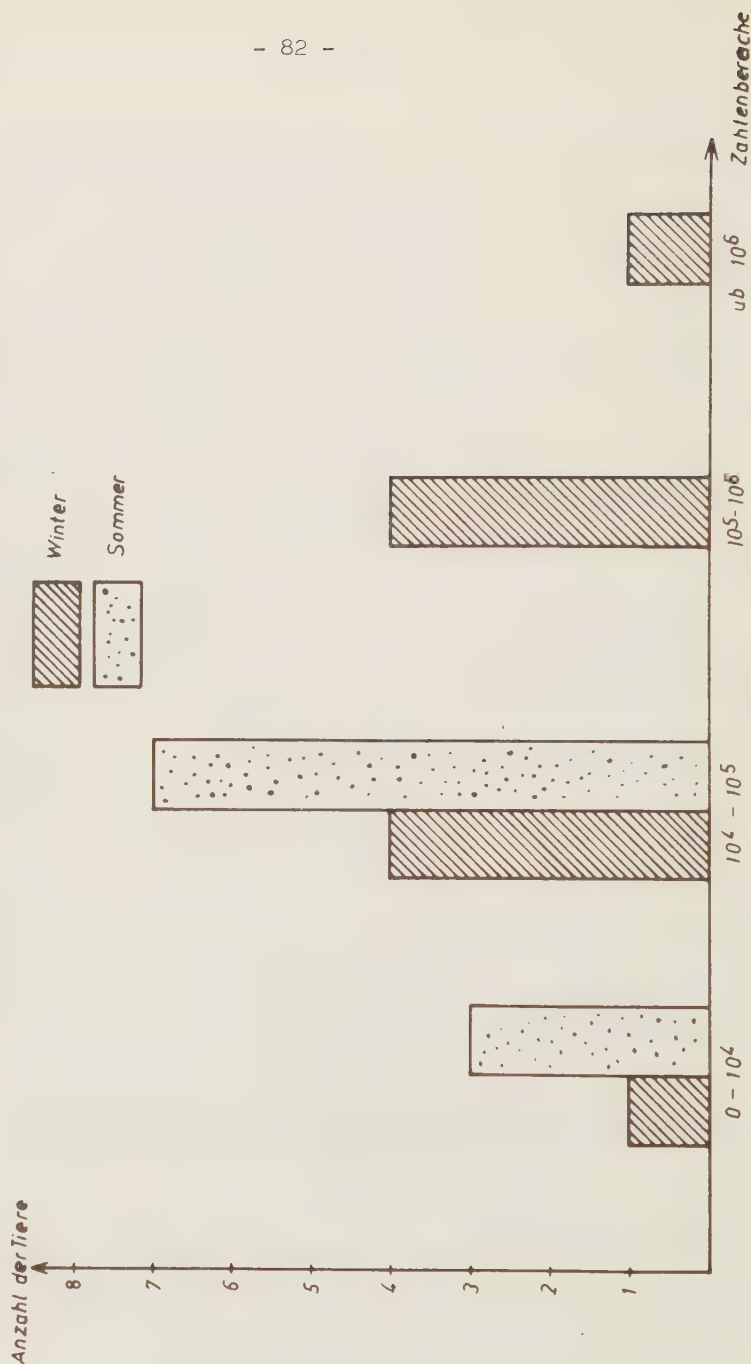
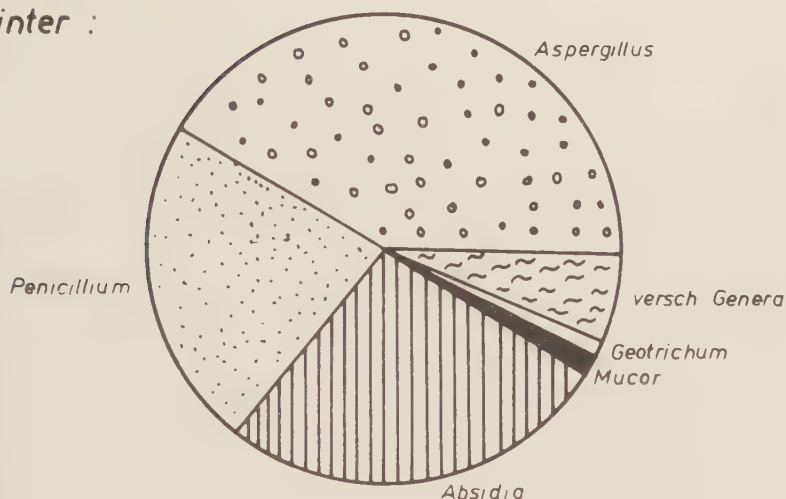
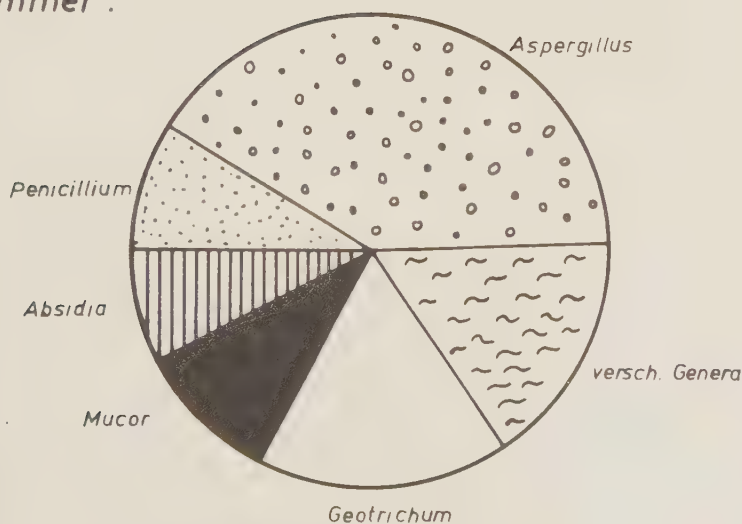


Tabelle VIII: Zusammensetzung der Schimmelpilzflora der Faeces von je 10 Rindern im Winter und Sommer

Winter :



Sommer :



2. Differenzierung der Gattung *Aspergillus* nach Gruppen und Arten

a) Schwein

Bei der Differenzierung der aus den 20 Faecesproben von *Schweinen* isolierten Schimmelpilze der Gattung *Aspergillus* ergab sich das in den Tabellen IXa und IXb dargestellte Bild. In diesen Tabellen sind für jedes der 20 untersuchten Schweine die ermittelten Gesamtzahlen der Schimmelpilze der Gattung *Aspergillus* pro Gramm Trockenmasse Kot aufgeführt. Es ist weiterhin ersichtlich die Aufgliederung der Gesamtzahlen in die hauptsächlich vertretenen Gruppen *Aspergillus glaucus* mit den Arten *A. repens* de Bary, *A. ruber* (König Spieckermann et Bremer) Thom et Church, *A. amstelodami* (Mangin) Thom et Church und *A. chevalieri* (Mangin) Thom et Church, *Aspergillus flavus* mit der Art *A. flavus* Link und übrige Arten zusammengefaßt, *Aspergillus fumigatus* mit den Arten *A. fumigatus* Fresenius und *A. fumigatus* Fresenius var. *ellipticus* Raper et Fennell und der Gruppe *Aspergillus candidus* mit der Art *A. candidus* Link. Alle übrigen Gruppen und Arten wurden in den Tabellen zusammengefaßt unter 'verschiedene Gruppen und Arten'.

Tabelle IXa: Aufteilung der Gattung *Aspergillus* nach Gruppen und Arten (Schwein)

Schwein Nr.	Ges.- zahl	Aspergillus glaucus			A. flavus		A. fumigatus		A. candidus		versch. Gruppen und Arten
		A. repens	A. ruber	A. amstel- dami	A. che- valieri	A. flavus Link	Übrige Arten	A. fumiga- tus Presen.	A. fumi- gatus var. ellipt.	A. candidus Link	
1	31.000	2.000	-	3.500	1.500	12.700	-	11.300	-	-	-
2	45.000	26.600	-	1.700	-	5.000	-	10.000	-	1.700	-
3	2.900	1.700	-	-	-	-	-	200	-	500	500
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	7.400	700	-	200	-	700	-	3.700	-	2.100	-
6	18.400	1.700	600	600	-	600	-	10.900	-	4.000	-
7	6.000	100	-	200	700	1.400	-	3.600	-	-	-
8	4.100	300	-	700	300	700	-	2.100	-	-	-
9	234.600	-	-	-	-	117.300	-	117.300	-	-	-
10	834.900	417.450	-	417.450	-	-	-	-	-	-	-

Tabelle IXb: Aufteilung der Gattung *Aspergillus* nach Gruppen und Arten (Schwein)

Schwein Ges. Nr.	Ges. zahl	Aspergillus glaucus				A. flavus		A. fumigatus			A. candidus		versch. Gruppen und Arten
		A. repens	A. ruber	A. amstel- dami	A. che- valie- ri	A. flavus Link	übrige Arten	A. furiga- tus Fresen.	A. fumi- gatus Fresen. var. ellipt.	A. candidus Link	A. candidus		
11	32.800	1.300	-	1.300	-	7.500	-	21.300	-	1.300	100		
12	1.307.700	-	-	284.300	-	739.100	-	284.300	-	-	-		
13	387.100	-	-	-	9.000	36.000	-	189.100	90.000	9.000	54.000		
14	256.700	-	16.500	-	-	-	-	49.700	49.700	116.000	24.800		
15	127.700	31.500	-	3.500	3.500	3.500	-	3.500	8.700	70.000	3.500		
16	53.700	21.000	-	-	-	7.600	-	7.000	11.700	7.000	-		
17	22.839.500	-	-	-	-	-	-	4.780.400	-	17.528.000	531.100		
18	155.300	8.000	-	39.700	8.000	16.000	-	23.900	-	39.700	20.000		
19	21.100	1.900	1.900	1.900	-	-	-	5.800	7.700	1.900	-		
20	16.000	4.400	-	-	-	-	-	1.500	2.200	3.600	4.300		

Aus den in den Tabellen IXa und IXb dargestellten Ergebnissen ist ersichtlich, daß aus 19 Kotproben von Schweinen Pilze der Gattung *Aspergillus* isoliert werden konnten, wobei die Gesamtzahlen zwischen 0 und rund 22,8 Millionen bei einem Mittelwert von 1,3 Millionen schwankten. Innerhalb der Gruppe *Aspergillus glaucus* traten die Arten *A. repens* de Bary und *A. amstelodami* (Mangin) Thom et Church hervor. Die nachgewiesenen Zahlen für die Art *A. repens* de Bary schwankten zwischen 0 und rund 420.000 bei einem Mittelwert von rund 30.000 und für die Art *A. amstelodami* (Mangin) Thom et Church zwischen 0 und rund 420.000 bei einem Mittelwert von rund 40.000. Die Art *A. ruber* (Konig, Spieckermann et Bremer) Thom et Church war mit Pilzzahlen von 0 bis rund 20.000 vertreten bei einem Mittelwert von rund 1.000. Bei der Art *A. chevalieri* (Mangin) Thom et Church lagen die Pilzzahlen zwischen 0 und rund 9.000 bei einem Mittelwert von etwa 1.000. Aus der *Aspergillus glaucus* Gruppe trat weiterhin noch die Art *A. mangini* Thom et Raper auf. Da sie jedoch nur bei einem Tier, Schwein 14, nachgewiesen werden konnte, wurde die Zahl in der Tabelle mit in der Rubrik 'verschiedene Gruppen und Arten' aufgeführt. Es wurden rund 25.000 Schimmelpilze dieser Art in einem Gramm Trockenmasse Kot bei Schwein 14 gefunden. Aus der Tabelle ist weiterhin zu ersehen, daß aus der Gruppe *Aspergillus flavus* nur die Art *A. flavus* Link nachgewiesen werden konnte, wobei die Zahlen zwischen 0 und rund 740.000 bei einem Mittelwert von rund 50.000 schwankten. Aus der *Aspergillus fumigatus* Gruppe konnten zwischen 0 und rund 4,8 Millionen Pilze der Art *A. fumigatus* Fresenius, woraus sich ein Mittelwert von rund 280.000 ergab, und zwischen 0 und rund 90.000 Pilzstämmen der Art *A. fumigatus* Fresenius var. *ellipticus* Raper et Fennell gefunden werden, wobei der Mittelwert bei etwa 9.000 lag. Die Art *A. candidus* Link der *Aspergillus candidus* Gruppe war mit Zahlen zwischen 0 und rund 17,5 Millionen bei einem Mittelwert von etwa 890.000 vertreten. Weiterhin waren zwischen 0 und 530.000 Pilze verschiedener Gruppen in den Kotproben vorhanden, wobei der Mittelwert bei

30.000 lag. Es handelte sich um die Gruppen *Aspergillus terreus* (Schwein 3, 13, 20), *A. nidulans* (Schwein 11, 15, 17), *A. clavatus* (Schwein 13, 18), *A. versicolor* (Schwein 18, 20) und *A. niger* (Schwein 18). Aus der *Aspergillus terreus* Gruppe konnte die Art *A. terreus* Thom, aus der *Aspergillus nidulans* Gruppe die Arten *A. nidulans* Eidam und *A. unguis* (Emile-Weil et Gaudin) Thom et Raper und aus der *Aspergillus clavatus* Gruppe die Art *A. clavatus* Desmazières isoliert werden. Bei den Pilzen der *Aspergillus versicolor* Gruppe handelte es sich ausschließlich um die Art *A. versicolor* (Vuill.) Tiraboschi.

Der Anteil der nachgewiesenen Schimmelpilzgruppen und Arten an der Gesamtzahl der isolierten Pilze der Gattung *Aspergillus* im Kot eines jeden untersuchten Schweines wird durch die Tabellen Xa und Xb verdeutlicht. In diesen Tabellen, die den gleichen Aufbau wie die Tabellen IXa und IXb aufweisen, sind die zahlenmäßigen Anteile der einzelnen Gruppen und Arten prozentual ausgedrückt. Es zeigt sich, daß die Arten *A. repens* de Bary und *A. amstelodami* (Mangin) Thom et Church bei der Mehrzahl der Tiere in den Faeces der Tiere nachgewiesen wurden und in drei bzw. einem Fall sogar 50 % und mehr ausmachten. Die Arten *A. ruber* (Konig, Spieckermann et Bremer) Thom et Church und *A. chevalieri* (Mangin) Thom et Church waren dagegen, wenn überhaupt, nur mit einem Anteil unter 10 % an der Gesamtzahl beteiligt. Lediglich bei einem Tier betrug der Wert rund 12 %. Stärker vertreten waren dagegen die Arten *A. flavus* Link, *A. fumigatus* Fresenius und *A. candidus* Link, die bei *A. flavus* Link und *A. candidus* Link je in 2 Fällen und bei *A. fumigatus* Fresenius in 6 Fällen einen Anteil von über 50 % an der Gesamtzahl der nachgewiesenen Pilze der Gattung *Aspergillus* stellten. Die Art *A. fumigatus* Fresenius war sogar nur bei 5 Tieren mit weniger als 10 % an der Gesamtzahl beteiligt. Dagegen wurden von der Art *A. fumigatus* Fresenius var. *ellipticus* Raper et Fennell und von allen übrigen Pilzgruppen und -arten, die unter der Rubrik 'verschiedene Gruppen und Arten' zusammengefaßt wurden, meist geringe Mengen

nachgewiesen. Der Anteil betrug in den meisten Fällen weniger als 10 %, wie aus den Tabellen ersichtlich wird. So kamen *A. fumigatus* var. *ellipticus* Raper et Fennell nur in 5 Fällen und 'verschiedene Gruppen und Arten' in 4 Fällen mit einem Prozentsatz zwischen 10 und 40 % vor.

Tabelle Xa: Aufteilung der Gattung *Aspergillus* nach Gruppen und Arten in Prozenten (Schwein)

Schwein Ges. Nr.	Aspergillus glaucus	A. re- pens	A. ru- ber	A. amste- lodami	A. che- valieri	A. flavus	A. fumigatus	A. candidus	versch. Gruppen und Arten
= 100 %									
1	31.000	6,5	-	11,3	4,8	41,0	-	-	-
2	45.000	59,1	-	3,8	-	11,1	-	3,8	-
3	2.900	58,7	-	-	-	-	-	17,2	17,2
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	7.400	9,4	-	2,8	-	9,4	-	28,4	-
6	18.400	9,2	3,3	3,3	-	3,3	-	21,7	-
7	6.000	1,7	-	3,3	11,7	23,3	-	-	-
8	4.100	7,3	-	17,1	7,3	17,1	-	-	-
9	23.600	-	-	-	-	50,0	-	-	-
10	834.900	50,0	-	50,0	-	-	-	-	-

Tabelle Xb:

Aufteilung der Gattung Aspergillus nach Gruppen und Arten in Prozenten (Schwein)

Schwein Nr.	Ges. zahl	Aspergillus glaucus										versch. Gruppen und Arten
		= 100 %										
		A.re- pens	A.ru- ber	A.amste- lodami	A.choc- valieri	A.flavus Link	A.flavus übrige Arten	A.fumigatus Presen.	A.fumi- gatus Presen. var. ellipt.	A.candidus Link	A.candidus Gruppen und Arten	
11	32.800	4,0	-	4,0	-	23,0	-	65,0	-	4,0	-	
12	1307.700	-	-	21,7	-	56,6	-	21,7	-	-	-	
13	307.100	-	-	-	2,3	9,2	-	48,9	23,3	2,3	14,6	
14	256.700	-	6,4	-	-	-	-	19,4	19,4	45,2	9,6	
15	127.700	24,8	-	2,7	2,7	2,7	-	2,7	6,8	54,9	2,7	
16	53.700	39,2	-	-	-	13,0	-	13,0	21,8	13,0	-	
17	22839.500	-	-	-	-	-	-	21,0	-	76,7	2,3	
18	155.300	5,2	-	25,6	5,2	10,3	-	15,4	-	25,5	12,8	
19	21.100	9,0	9,0	9,0	-	-	-	27,5	36,5	9,0	-	
20	16.000	27,5	-	-	-	-	-	9,4	13,0	22,5	26,8	

b) Rind

Bei der Differenzierung der aus 20 Faecesproben von R i n d e r n isolierten Schimmelpilze der Gattung Aspergillus ergab sich das in den Tabellen XIa und XI b dargestellte Bild. Hier sind wiederum die bei den einzelnen Tieren ermittelten Gesamtzahlen der Pilze der Gattung Aspergillus pro Gramm Trockenmasse Kot aufgeführt. Ersichtlich wird weiterhin die Aufgliederung der Gesamtzahlen in die vornehmlich vertretenen Gruppen Aspergillus glaucus mit den Arten A. repens de Bary, A. ruber (Konig, Spieckermann et Bremer) Thom et Church, A. amstelodami (Mangin) Thom et Church und A. chevalieri (Mangin) Thom et Church, Aspergillus flavus mit der Art A. flavus Link und übrige Arten zusammengefaßt, Aspergillus fumigatus mit den Arten A. fumigatus Fresenius und Afumigatus Fresenius var. ellipticus Raper et Fennell und der Gruppe Aspergillus candidus mit der Art A. candidus Link. Alle übrigen Gruppen und Arten werden in den Tabellen wiederum zusammengefaßt unter 'verschiedene Gruppen und Arten'.

Bei den in Tabelle XIa dargestellten Ergebnissen handelt es sich um die im Winter untersuchten Faecesproben von Rind 1 bis 10. Bei allen Tieren konnten Pilze der Gattung Aspergillus nachgewiesen werden. Der Mittelwert betrug rund 140.000, wobei die Zahlen bei den einzelnen Tieren zwischen rund 5.000 und 860.000 lagen. Aus den Tabellen ist ersichtlich, daß die Arten A. repens de Bary und A. amstelodami (Mangin) Thom et Church auch bei dieser Tierart im Winter innerhalb der Gruppe Aspergillus glaucus dominiert. Die nachgewiesenen Zahlen von A. repens de Bary lagen zwischen 0 und rund 80.000 bei einem Mittelwert von etwa 20.000, und die Zahlen von A. amstelodami (Mangin) Thom et Church lagen zwischen 0 und rund 20.000, woraus sich ein Mittelwert von etwa 5.000 errechnen läßt. Die Art A. ruber (Konig, Spieckermann et Bremer) Thom et Church war nur in zwei Kotproben vertreten mit Zahlen von rund 2.000 und rund

5.000. Die Zahlen für *A. chevalieri* (Mangin) Thom et Church lagen zwischen rund 400 und 14.000 bei einem Mittelwert von rund 2.000. Aus der *Aspergillus glaucus* Gruppe trat weiterhin noch die Art *A. mangini* Thom et Raper bei einem Tier (Rind 9) mit 400 Pilzen auf. Auf Grund ihres seltenen Vorkommens und der geringen nachgewiesenen Menge wurden sie zusammen mit den Zahlen der anderen weniger häufig aufgetretenen Gruppen und Arten unter 'verschiedene Gruppen und Arten' in der Tabelle aufgeführt. Aus der *Aspergillus flavus* Gruppe konnte im Winter nur die Art *A. flavus* Link nachgewiesen werden. Die Zahlen lagen zwischen 0 und rund 50.000 bei einem Mittelwert von rund 10.000. Auch die *Aspergillus fumigatus* Gruppe war nur mit einer Art vertreten. Es wurden bei allen Tieren Pilze der Art *A. fumigatus* Fresenius nachgewiesen, wobei die Zahlen zwischen rund 1.000 und 850.000 schwankten und der Mittelwert bei etwa 90.000 lag. Aus der *Aspergillus candidus* Gruppe konnten zwischen 0 und rund 10.000 Pilze der Art *A. candidus* Link isoliert werden. Der Mittelwert lag bei rund 3.000. In der Tabelle XIa wurden unter 'verschiedene Gruppen und Arten' zusammen mit der oben genannten selten vorgekommenen Art der *Aspergillus glaucus* Gruppe die nachgewiesenen Zahlen der Arten *A. versicolor* (Vuill.) Tiraboschi (Rind 9) und *A. sydowi* (Bain. et Sart.) Thom et Church (Rind 5, 7) der *Aspergillus versicolor* Gruppe sowie die nachgewiesenen Zahlen der Pilze der *Aspergillus niger* Gruppe (Rind 1) aufgeführt. Die Zahlen schwankten dabei zwischen 0 und rund 5.000, und der Mittelwert lag bei 1.000.

Tabelle XIa: Aufteilung der Gattung Aspergillus nach Gruppen und Arten (Rind — Winter)

Rind Nr.	Ges.- zahl	Aspergillus glaucus		A. repens	A. ruber	A. amstel- dami	A. che- valie- ri	A. flavus Link	übrige Arten	A. fumigatus		A. candi- dus	versch. Gruppen und Arten
		A. flavus Link	A. fumigatus Presen. var. ellipt.										
1	16.900	7.100	-	-	-	-	-	1.400	-	7.000	-	-	1.400
2	859.000	-	-	-	-	-	-	-	-	847.000	-	11.900	-
3	5.400	1.900	-	500	1.000	-	-	-	-	1.000	-	-	1.000
4	90.200	52.700	-	5.600	-	-	-	19.400	-	11.100	-	1.400	-
5	177.600	84.000	4.500	22.700	-	-	-	52.200	-	4.600	-	5.000	4.600
6	20.000	13.600	-	-	-	-	-	900	-	1.700	-	3.800	-
7	38.000	1.100	-	8.000	2.800	-	-	5.100	-	8.500	-	8.500	4.000
8	70.900	-	-	-	14.200	-	-	18.900	-	37.800	-	-	-
9	13.000	3.700	1.900	3.300	400	-	-	-	-	1.100	-	700	1.900
10	65.400	54.200	-	7.000	-	-	-	-	-	3.500	-	700	-

In der Tabelle XIb wurden die Ergebnisse der im Sommer untersuchten Faecesproben von Rind 11 bis 20 dargestellt. Es ist zu ersehen, daß auch im Sommer bei allen Proben Pilze der Gattung *Aspergillus* nachgewiesen wurden. Die Zahlen lagen zwischen rund 2.000 und 60.000 bei einem Mittelwert von etwa 10.000. Aus der *Aspergillus glaucus* Gruppe konnten zwischen 0 und rund 4.000 im Durchschnitt etwa 1.000 Pilze der Art *A. repens* de Bary, zwischen 0 und rund 10.000 im Durchschnitt etwa 2.000 Pilze der Art *A. amstelodami* (Mangin) Thom et Church und in zwei Fällen rund 1.000 bzw. 2.000 Pilze der Art *A. ruber* (Konig, Spieckermann et Bremer) Thom et Church nachgewiesen werden. Weiterhin konnten noch aus dieser Gruppe 600 Pilze der Art *A. pseudoglaucus* Blochwitz aus dem Kot von Rind 14 isoliert werden, während *A. chevalieri* (Mangin) Thom et Church im Sommer nicht isoliert werden konnte. Die Zahlen der Art *A. pseudoglaucus* Blochwitz wurden zusammen mit denen der übrigen weniger vorgekommenen Pilzgruppen und -arten unter 'verschiedene Gruppen und Arten' zusammengefaßt. Aus der *Aspergillus flavus* Gruppe trat die Art *A. flavus* Link mit Zahlen zwischen 0 und rund 4.000 bei einem Mittelwert von etwa 1.000 auf. Weiterhin konnten aus dem Kot von Rind 17 etwa 200 Pilze der Art *A. tamaris* Kita isoliert werden. Aus der *Aspergillus fumigatus* Gruppe wurden zwischen 0 und rund 3.000 Stämme allein der Art *A. fumigatus* Fresenius nachgewiesen. Der Mittelwert lag bei rund 1.000. Aus der Tabelle ist weiterhin zu ersehen, daß die Zahlen der Art *A. candidus* Link zwischen 0 und rund 26.000 bei einem Mittelwert von rund 5.000 lagen und daß zwischen 0 und etwa 21.000 Pilze verschiedener Gruppen nachgewiesen wurden. Der Mittelwert lag hier bei etwa 3.000. Es handelt sich neben der genannten Art *A. pseudoglaucus* Blochwitz noch um die Gruppen *Aspergillus terreus*, *A. nidulans* und *A. versicolor* mit den Arten *A. terreus* Thom (Rind 14, 15, 16), *A. nidulans* Eidam (Rind 11, 19), *A. ambiguus* Sappa (Rind 18) und *A. sydowi* (Bain et Start.) Thom et Church (Rind 18).

Tabelle XIIb: Aufteilung der Gattung *Aspergillus* nach Gruppen und Arten (Rind - Sommer)

Rind Nr.	Ges.- zahl	Aspergillus glaucus				A. flavus		A. fumigatus		A. candidus		versch. Gruppen und Arten
		A. repens	A. ruber	A. amstel- dami	A. che- valie- ri	A. flavus Link	übrige Arten	A. fumi- gatus Presen.	A. fumi- gatus Presen. var. ellipt.	A. candidus Link		
11	7.700	800	-	-	-	4.100	-	800	-	300	1.700	-
12	9.200	2.300	-	-	-	2.300	-	2.300	-	2.300	-	
13	3.800	1.600	-	2.200	-	-	-	-	-	-	-	-
14	23.000	2.300	1.200	-	-	-	-	-	-	13.200	6.300	
15	9.700	-	-	500	-	4.100	-	2.000	-	500	2.600	-
16	2.400	-	-	-	-	100	-	2.200	-	100	-	
17	3.500	-	-	1.800	-	900	200	100	-	300	200	-
18	58.300	2.700	-	5.300	-	-	-	2.700	-	26.400	21.200	
19	24.600	4.100	2.000	10.200	-	2.000	-	2.000	-	2.300	2.000	-
20	1.900	300	-	700	-	100	-	100	-	700	-	

In den folgenden Tabellen XIIa und XIIb, die den gleichen Aufbau wie die Tabellen XIa und XIb aufweisen, sind die zahlenmäßigen Anteile der einzelnen Gruppen und Arten an der Gesamtzahl der Pilze der Gattung *Aspergillus* prozentual ausgedrückt. Die bei den einzelnen Tieren gefundenen Gesamtzahlen von Schimmelpilzen dieser Gattung werden ebenfalls angegeben.

Bei den in Tabelle XIIa aufgeführten Rindern 1 bis 10 handelt es sich um die im Winter geschlachteten Tiere. Es zeigt sich hier klar, daß die *Aspergillus glaucus* Gruppe mit einem großen Anteil an der Gesamtzahl der nachgewiesenen Pilze der Gattung *Aspergillus* beteiligt war. Von hervorragender Bedeutung war dabei die Art *A. repens* de Bary. In drei Fällen waren über 50 %, bei einem Tier sogar rund 83 % aller Pilze der Gattung *Aspergillus* Vertreter dieser Art. Weiterhin kam noch die Art *amstelodami* (Mangin) Thom et Church bei der Mehrzahl der Proben vor, jedoch betrug ihr Anteil genau wie der der Arten *A. ruber* (König, Spieckermann et Bremer) Thom et Church und *A. chevalieri* (Mangin) Thom et Church niemals mehr als 30 %. Es zeigt sich, daß auch die Arten *A. flavus* Link und *A. candidus* Link nur mit Anteilen bis zu 30 % nachzuweisen waren. Die Art *A. fumigatus* Link kam bei allen untersuchten Proben vor. In zwei Fällen waren über 50 % aller isolierten Pilze der Gattung Stämme dieser Art. Bei Rind 2 betrug der Anteil sogar beinahe 99 %. Es zeigt sich in der Tabelle weiterhin, daß alle übrigen Pilzgruppen und -arten zahlenmäßig von geringerer Bedeutung waren. Niemals betrug der Anteil aller unter 'verschiedene Gruppen und Arten' zusammengefaßter Gruppen und Arten mehr als 20 %.

Tabelle XIIa: Aufteilung der Gattung *Aspergillus* nach Gruppen und Arten in Prozenten
(Rind - Winter)

Rind Nr.	Ges. zahl = 100 %	Aspergillus glaucus		A. flavus	A. fumigatus	A. candidus	versch. Gruppen und Arten			
		A. re- pens	A. ru- ber							
		A. re- pens	A. ru- ber	A. amste- lodami	A. che- valieri	A. flavus Link	übrige Arten	A. fumigatus Presen. var. ellipt.	A. candi- dus Link	
1	16.900	42,0	-	-	-	8,3	-	41,4	-	8,3
2	859.000	-	-	-	-	-	-	98,6	1,4	-
3	5.400	35,2	-	9,3	18,5	-	-	18,5	-	18,5
4	90.200	58,4	-	6,2	-	21,5	-	12,3	1,6	-
5	177.600	47,3	2,5	12,8	-	29,4	-	2,6	2,8	2,6
6	20.000	68,0	-	-	-	4,5	-	8,5	19,0	-
7	38.000	2,8	-	21,1	7,4	13,4	-	22,4	22,4	10,5
8	70.900	-	-	-	20,0	26,7	-	53,3	-	-
9	13.000	28,4	14,6	25,4	3,1	-	-	8,5	5,4	14,6
10	65.400	82,9	-	10,7	-	-	-	5,3	1,1	-

- 98 -

1
8
1

In Tabelle XIIb werden die Anteile der einzelnen Gruppen und Arten an der Gesamtzahl aller im Sommer bei Rind 11 bis 20 nachgewiesenen Pilze der Gattung *Aspergillus* prozentual wiedergegeben. Pilze der *Aspergillus glaucus* Gruppe konnten bei fast allen Tieren nachgewiesen werden. Aus der Tabelle wird ersichtlich, daß im Sommer der Anteil der Art *A. amstelodami* (Mangin) Thom et Church meist größer war als der der Art *A. repens* de Bary. In zwei Fällen waren sogar über 50 % aller nachgewiesenen Pilze der Gattung *Aspergillus* Vertreter dieser Art. Weiterhin ist aus der Tabelle ersichtlich, daß der Anteil der Art *A. ruber* (Konig, Spieckermann et Bremer) Thom et Church bei den zwei Tieren, bei denen die Art vorkam, nur unter 10 % lag. Auch zeigt sich, daß es innerhalb der Gruppen *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus* und *A. candidus* im Sommer die gleichen Arten waren wie im Winter, die nachzuweisen waren und die in einigen Fällen einen großen Anteil an der Gesamtzahl stellten. In je einer Faecesprobe waren mehr als 50 % von der Gesamtzahl Vertreter der Arten *A. flavus* Link, *A. fumigatus* Fresenius und *A. candidus* Link. Bei den Untersuchungen der Probe von Rind 16 zeigte sich, daß der Anteil der Art *A. fumigatus* Fresenius sogar bei über 90 % lag. Aus der *Aspergillus flavus* Gruppe konnte nur in einem Fall eine andere Art als *A. flavus* Link nachgewiesen werden, der Anteil der Art *A. tamarii* Kita lag in dieser Probe unter 10 %. Die unter 'verschiedene Gruppen und Arten' zusammengefaßten Pilzgruppen und -arten stellten im Sommer zwar einen etwas höheren Anteil als im Winter, doch nur in einem Fall waren etwa ein Drittel aller Pilze Vertreter dieser Art.

Tabelle XIIb: Aufteilung der Gattung *Aspergillus* nach Gruppen und Arten in Prozenten
(Rind - Sommer)

Rind Nr.	Ges. zahl = 100 %	Aspergillus glaucus		A. flavus		A. fumigatus		A. candidus		versch. Gruppen und Arten	
		A. re- pens	A. ru- ber	A. amste- lodami	A. che- valieri	A. flavus Link	übrige Arten	A. fumi- gatus Fresen.	A. fumi- gatus Fresen. var. ellipt.		A. candi- dus Link
11	7.700	10,4	-	-	-	53,2	-	10,4	-	3,9	22,1
12	9.200	25,0	-	-	-	25,0	-	25,0	-	25,0	-
13	3.800	42,1	-	57,9	-	-	-	-	-	-	-
14	23.000	10,0	5,2	-	-	-	-	-	-	57,4	27,4
15	9.700	-	-	5,1	-	42,3	-	20,7	-	5,2	26,8
16	2.400	-	-	-	-	4,2	-	91,6	-	4,2	-
17	3.500	-	-	51,4	-	25,7	5,7	2,9	-	8,6	5,7
18	58.300	4,6	-	9,1	-	-	-	4,6	-	45,3	36,4
19	24.600	16,7	8,1	41,5	-	8,1	-	8,1	-	9,4	8,1
20	1.900	15,8	-	36,8	-	5,3	-	5,3	-	36,8	-

D. Besprechung der Ergebnisse und Diskussion

Den Ergebnissen liegen qualitative und quantitative Bestimmungen der aus den Faeces von 40 Schlachttieren isolierten Schimmelpilze zugrunde. Bei allen Untersuchungen dienten jeweils 10 g Kot als Ausgangsmaterial für die Herstellung einer Verdünnungsreihe. Das Material wurde stichprobenartig steril aus dem Enddarm von Tieren, die auf dem Gießener Schlachthof geschlachtet worden waren, unmittelbar nach der Schlachtung entnommen und sofort zur Herstellung einer Verdünnungsreihe von 1:10 bis 1:10.000, im Ausnahmefall bis 1:800.000, verwendet. Dabei wurde auf eine Zerkleinerung der Kotpartikel und auf die Herstellung von gleichmäßigen, stabilen Suspensionen besonderer Wert gelegt. Die Anwendung der Verdünnungsmethode wird von vielen Autoren zur Erzielung von Einzelsporenkulturen mit verhältnismäßig schneller Anwendungsweise empfohlen (RAPER und FENNELL 1965; CHRISTENSEN 1946, 1957; HADLOK 1969b; BONNER und FERGUS 1959; HOLTENIUS und NIELSEN 1957). Nach CHRISTENSEN 1946 ist die angewendete Verdünnungstechnik neben der Auswahl der Kulturmedien und der angewendeten Auszähltechnik einer der Faktoren, die das Ergebnis stark beeinflussen können und die daher bei allen Untersuchungen von entscheidender Bedeutung sind.

Zur Erzielung einer gleichmäßigen Verteilung der Sporen in der Suspension wurde ein Zusatz von verdünnter NatriumlaurylsulfonatLösung zur Suspension gegeben. Er dient nach RAPER und FENNELL 1965 der Benetzung der Sporen, ohne daß diese nachteilig beeinflußt werden. Weiterhin wird die Zugabe eines Stabilisators zur Suspension von einigen Autoren für erforderlich gehalten (CHRISTENSEN 1957, HADLOK 1969b). Zur Anwendung gelangte Carboxymethylcellulose, was entscheidend zur Viskositätserhöhung der Suspension beitrug. CHRISTENSEN 1957 hatte bei seinen Untersuchungen über das Vorkommen von Schimmelpilzen im Getreide bei der Verwendung von reinem

Wasser große Unterschiede bei den einzelnen Kontrollplatten festgestellt, konnte aber nach Zusatz eines Stabilisators zur Suspensionsflüssigkeit in Form von 0,2 % Agar die Streuung auf Platten gleicher Verdünnungsstufen auf nur 5 bis 10 % einengen. Für die Erfassung der Schimmelpilzzahlen diente bei den eigenen Untersuchungen die Tiefenkulturmethode, wobei pro Verdünnungsstufe jeweils 3 Parallelplatten der verwendeten Nährmedien und eine Kontrollplatte angelegt wurden und für eine gleichmäßige Durchmischung gesorgt wurde. Nach RAPER und FENNELL 1965 stammen bei sorgfältiger Anwendung der Tiefenkulturmethode über 95 % aller wachsenden Kolonien von einzelnen Sporen ab.

An Nährmedien kamen ein Malt-Agar mit erhöhtem Kohlenhydratgehalt von 5 % zur Anwendung und ein Czapek-Dox-Medium mit zusätzlich 6 % NaCl, das sich in Vergleichsuntersuchungen einem Czapek-Dox-Agar mit Zusatz von 17 % Saccharose bei der Auswertung durch bessere Hemmung des Wachstums von Pilzen der Familie Mucoraceae als überlegen erwies. Beide Nährmedien wurden auf einen pH-Wert von 4,5 eingestellt. Bei dem Malt-Agar handelt es sich um einen in der Mykologie gebräuchlichen und auf seine Eignung für gleichmäßiges Wachstum möglichst vieler vorhandener Schimmelpilzgattungen getestetes Medium (RAPER und FENNELL 1965, RAPER und THOM 1949, HADLOK 1969b, CHRISTENSEN 1957). Jede durch Myzelwachstum charakterisierte Pilzkolonie wurde von diesem Medium sofort nach dem Sichtbarwerden unter dem Mikroskop durch Ausstechen isoliert. Eine Isolierung, zumindest aber Markierung der Pilzkolonien ist besonders beim Vorliegen einer Schimmelpilzflora mit Gattungen unterschiedlicher Wachstumsgeschwindigkeit von Bedeutung, da die gegenseitige Beeinflussung und Ausbreitung einiger Pilzgattungen sich sonst bei der Ermittlung von Schimmelpilzzahlen nachteilig auswirkt. (CHRISTENSEN 1957, BONNER und FERGUS 1959, HADLOK 1969b, BATISTA et al. 1959, VAN UDEN und SOUSA 1957).

Da jedes in der Mikrobiologie angewandte Nährmedium zur Isolierung von Mikroorganismen in einem gewissen Grad selektiv ist (CHRISTENSEN 1957) und es ausgeschlossen ist, mit Hilfe eines einzigen Nährmediums alle Pilzgattungen und -arten zu isolieren (HADLOK 1969b), wurden bei den Versuchen stets zwei Nährmedien nebeneinander angewendet. Das Malt-Medium bietet besonders den schnell wachsenden Pilzen der Familie Mucoraceae gute Wachstumsbedingungen. Der Czapek-Dox-Agar (OXOID) plus 6 % NaCl diente der Erfassung osmo-philer Schimmelpilze, insbesondere der Gattung *Aspergillus*. Ein Zusatz von Salz oder Zucker zu diesem Nährmedium hat sich beim Anlegen von Pilzkulturen als nützlich erwiesen (RAPER und THOM 1949, RAPER und FENNELL 1965; CHRISTENSEN 1946, 1957, HADLOK 1969b, ROLLE und KOLB 1954). Von entscheidender Bedeutung ist weiterhin noch ein niedriger pH-Wert, da Pilze ein saures Milieu bevorzugen (PELCZAR und REID 1958, RAPER und FENNELL 1965, RAPER und THOM 1965, MÜLLER 1970, CHRISTENSEN 1946, 1957) und vor allem durch den niedrigen pH-Wert eine bakterielle Begleitflora unterdrückt wird.

Ein Zusatz von Antibiotika oder anderen Substanzen, wie er zur Unterdrückung von unerwünschtem Wachstum von Bakterien oder spezifischen Pilzgattungen von einigen Autoren angewendet oder empfohlen wird (CURL 1968, MARTIN 1950, RAPER und FENNELL 1965, BATISTA et al. 1961, LACEY und LACEY 1964, VAN UDEN und SOUSA 1957), erschien nicht notwendig. Nur bei wenigen Proben war ein stärkeres Wachstum besonders von aerober Sporenbildnern in niedrigeren Verdünnungsstufen zu beobachten. Ein Ausweichen auf andere Verdünnungsstufen war stets möglich.

Die Differenzierung erfolgte an Hand von Kulturmerkmalen und der mikroskopisch wahrnehmbaren Morphologie nach Anfertigen geeigneter Objektträgerpräparate und -kulturen (v. ARX 1967, RIDDELL 1950) mit Hilfe eines geeigneten Gattungsschlüssels

(v.ARX 1967) und international anerkannter taxonomischer Werke und Arbeiten.

Die quantitativen Angaben über das Vorkommen von Schimmelpilzen in den Faeces der Schlachttiere beziehen sich alle auf ein Gramm Trockenmasse Kot. Damit ist es möglich, die bei einzelnen Tieren vorkommenden Mengen an Pilzstämmen direkt zu vergleichen. Zur Bestimmung des Schimmelpilzsporengehalts von einem Gramm Kot, so wie er sich im Darm der Tiere befindet und wie er für die direkte oder indirekte Kontamination des Fleisches in Frage kommt, müssen die in den Tabellen angegebenen Zahlen durch einen Faktor dividiert werden. Dieser liegt bei den Kotproben der Schweine im Durchschnitt bei 4,5. Bei einzelnen Tieren bestehen Abweichungen, die von 3,4 bis 7 schwanken. Bei den Rindern konnten erhebliche Unterschiede im Wassergehalt der Faeces im Winter und im Sommer festgestellt werden, da dieser stark von der Beschaffenheit des Futters abhängig ist. Infolgedessen liegt dieser Faktor im Winter bei etwa 6, im Sommer bei etwa 7. Bei einzelnen Tieren treten Schwankungen von 5 bis 10,5 auf.

Bei a l l e n untersuchten Tieren konnten Schimmelpilze in großer Zahl in den Faeces nachgewiesen werden. Auffallend waren die großen Unterschiede bei den einzelnen Tieren. Bei den S c h w e i n e n lagen die ermittelten Gesamtschimmelpilzzahlen zwischen rund 7.000 und 77 Millionen, bei den R i n d e r n zwischen rund 4.000 und 5 Millionen. Deutliche Unterschiede waren bei den Rindern zwischen den im Winter und den im Sommer entnommenen Kotproben feststellbar. Der Mittelwert von über 700.000 Schimmelpilzen pro Gramm Trockenmasse Kot im Winter bei einer Schwankungsbreite von 9.000 bis 5 Millionen, lag um ein Vielfaches höher als der im Sommer ermittelte Mittelwert von etwa 30.000 bei einer Schwankungsbreite von 4.000 bis 100.000. Aus keiner der im Sommer untersuchten Kotproben konnten mehr als 10^5 Schimmelpilze pro Gramm Trockenmasse

isoliert werden, dagegen waren in der Hälfte der im Winter untersuchten Proben mehr als 10^5 Pilze enthalten (Tabelle VII - Seite 82). Bei der Berechnung von Mittelwerten muß beachtet werden, daß bei so großer Streuung der Einzelwerte, wie bei den vorliegenden Untersuchungen, diese von geringerer Aussagekraft sind als die Nennung von oberen und unteren Grenzwerten, mit deren Vorkommen bei der betreffenden Tierart gerechnet werden muß. So war auch trotz der bestehenden deutlichen Unterschiede im Winter und im Sommer beim Rind mit Hilfe des t-Tests (Graf / Henning / Stange 1966) keine Signifikanz der Unterschiede zwischen den Schimmelpilzzahlen feststellbar.

In der zugänglichen Literatur konnten nur bei 2 Autoren Angaben über den quantitativen Schimmelpilzgehalt im Magen-Darmtrakt von Schlachttieren gefunden werden. Während es sich bei HOLTENIUS und NIELSEN 1957 um Untersuchungen der Pansenflüssigkeit von Schafen in Dänemark handelte, wobei nach diesen Autoren pro ml 20 bis 100 Schimmelpilze enthalten waren, untersuchten EMPEY und SCOTT 1939 in Australien den Panseninhalt von 2 und den Enddarminhalt von 5 Schlachtrindern. Die von diesen Autoren bei vergleichbarer Bebrütungstemperatur, ebenfalls pro Gramm Trockenmasse Kot, nachgewiesene durchschnittliche Schimmelpilzzahl lag im Bereich von 10^4 und war nur mit der Durchschnittszahl der bei den eigenen Untersuchungen im Sommer ermittelten Pilzzahlen, die ebenfalls im Bereich von 10^4 lag, vergleichbar. Die bei den eigenen Untersuchungen ermittelte Durchschnittszahl des Schimmelpilzgehaltes im Kot der im Winter geschlachteten Tiere lag dagegen im Bereich von 10^5 .

Bei der Betrachtung der qualitativen Zusammensetzung der Schimmelpilzflora der Faeces fällt der starke Anteil der Gattungen *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Absidia* und *Geotrichum* auf. Diese Gattungen waren bei beiden Tierarten, beim Rind sowohl im Winter wie im Sommer, vertreten. Tabelle XIII

vermittelt einen zusammenfassenden Eindruck von der qualitativen Zusammensetzung der Schimmelpilzflora der Faeces der untersuchten Schweine, der im Winter und der im Sommer untersuchten Rinder sowie, zum Vergleich mit den Schweinen, der Rinder ohne Berücksichtigung der Jahreszeit. Die bei den Gruppen von Tieren ermittelten Mittelwerte sowie die durchschnittlichen prozentualen Anteile der nachgewiesenen Pilze pro Gramm Trockenmasse Kot werden für die Gattungen *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Absidia* und *Geotrichum* gesondert und für alle übrigen Gattungen unter 'verschiedene Genera' zusammen aufgeführt. Um welche Pilzgattung es sich bei diesen in der Gruppe 'verschiedene Genera' zusammengefaßten Gattungen hauptsächlich handelte, geht ebenfalls aus der Tabelle hervor, wobei ein + in der Tabelle anzeigt, daß eine Gattung nachgewiesen wurde.

Die weitere Aufteilung der Gattung *Aspergillus* in die Gruppen und Arten geht aus der anschließenden Tabelle XIV hervor, die den gleichen Aufbau wie Tabelle XIII besitzt. Innerhalb der Gattung *Aspergillus* waren es nur wenige Gruppen, nämlich *A. glaucus*, *A. flavus*, *A. fumigatus* und *A. candidus* mit jeweils einer oder wenigen Arten, die regelmäßig in großer Zahl nachgewiesen wurden. Bei diesen Pilzarten erfolgte eine Angabe der ermittelten Mittelwerte pro Gramm Trockenmasse Kot sowie der durchschnittlichen prozentualen Anteile, während alle übrigen Arten unter 'verschiedene Arten' zusammengefaßt aufgeführt wurden. Ein + in der Tabelle zeigt an, daß eine Art nachgewiesen wurde.

Tabelle XIII: Zusammenfassende Darstellung der bei den untersuchten Tieren in den Faeces nachgewiesenen Schimmelpilze, deren Durchschnittszahlen pro Gramm Trockenmasse Kot (gTM), sowie der durchschnittliche Anteil in Prozenten.

Tierart	Schwein		Rind (Winter)		Rind (Sommer)		Rind (Winter und Sommer)	
Gattung	Nachweis	Durchschnittl. Zahl / Anteil gTM in %	Nachweis	Durchschnittl. Zahl / Anteil gTM in %	Nachweis	Durchschnittl. Zahl / Anteil gTM in %	Nachweis	Durchschnittl. Zahl / Anteil gTM in %
<i>Penicillium</i>	+	140.000 7,9	+	150.000 23,0	+	7.000 8,9	+	78.500 15,9
<i>Aspergillus</i>	+	1300.000 43,6	+	140.000 41,9	+	10.000 40,7	+	75.000 41,3
<i>Mucor</i>	+	6200.000 34,2	+	380.000 1,4	+	2.000 9,5	+	191.000 5,4
<i>Absidia</i>	+	60.000 6,8	+	400.000 26,7	+	1.000 7,6	+	200.500 17,2
<i>Geotrichum</i>	+	9.000 4,8	+	5.000 1,0	+	9.000 17,2	+	7.000 9,1
versch. Genera	+	4.000 2,7	+	4.000 6,0	+	5.000 16,1	+	4.500 11,1
<i>Cladosporium</i>	+		+		+		+	
<i>Fusarium</i>	+				+		+	
<i>Paecilomyces</i>	+		+		+		+	
<i>Rhizopus</i>	+		+		+		+	
<i>Trichothecium</i>					+		+	

Tabelle XIV: Zusammenfassende Darstellung der bei den untersuchten Tieren in den Faeces nachgewiesenen Pilzarten der Gattung *Aspergillus*, deren Durchschnittszahlen pro Gramm Trockenmasse Kot (gTM), sowie der durchschnittliche Anteil in Prozenten.

Pilzart	Schwein		Rind (Winter)		Rind (Sommer)		Rind (Winter u. Sommer)	
	Nachweis	Durchschnittl. Zahl/ gTM in %	Nachweis	Durchschnittl. Zahl/ gTM in %	Nachweis	Durchschnittl. Zahl/ gTM in %	Nachweis	Durchschnittl. Zahl/ gTM in %
<i>A. repens</i>	+	30.000 15,6	+	20.000 36,5	+	1.000 12,5	+	10.500 24,5
<i>A. ruber</i>	+	1.000 0,9	+	500 1,7	+	300 1,3	+	450 1,5
<i>A. amstelodami</i>	+	40.000 7,7	+	5.000 8,5	+	2.000 20,2	+	3.500 14,4
<i>A. chevalieri</i>	+	1.000 1,7	+	2.000 4,9	+		+	1.000 2,5
<i>A. flavus</i>	+	50.000 13,5	+	10.000 10,4	+	1.000 16,4	+	5.500 13,4
übrige Arten						20 0,6	+	10 0,3
<i>A. fumigatus</i>	+	80.000 29,0	+	90.000 27,1	+	1.000 16,8	+	45.500 22,0
<i>A. fumigatus</i> var. <i>ellipticus</i>	+	9.000 6,1						
<i>A. candidus</i>	+	890.000 16,2	+	3.000 5,4	+	5.000 19,6	+	4.000 12,5
versch. Arten	+	30.000 4,3	+	1.000 5,5	+	3.000 12,6	+	2.000 9,1
<i>A. manginii</i>	+		+				+	
<i>A. pseudoglaucus</i>					+		+	
<i>A. terreus</i>	+				+		+	
<i>A. nidulans</i>	+				+		+	
<i>A. unguis</i>	+				+		+	
<i>A. clavatus</i>	+							
<i>A. versicolor</i>	+							
<i>A. sydowi</i>			+		+		+	
<i>A. ambiguous</i>			+		+		+	
<i>A. niger</i> (Gruppendiagnose)			+				+	

Die Summe der für das Schwein angegebenen durchschnittlichen Anteile in Prozenten ergibt in der Tabelle einen Wert von 95 %, da bei 5 % der Tiere keine Pilze der Gattung *Aspergillus* nachgewiesen werden konnten.

Aus diesen zusammenfassenden Darstellungen geht deutlich hervor, daß beim *S c h w e i n* die Gattungen *Aspergillus* und *Mucor* von überragender Bedeutung waren. Der ermittelte Anteil der Pilze der Gattung *Aspergillus* lag im Durchschnitt bei 43,6 %, oder zahlenmäßig ausgedrückt wurden durchschnittlich 1,3 Millionen Pilze dieser Gattung aus einem Gramm Trockenmasse Kot isoliert.

Bei den Pilzen der Gattung *Mucor* lag der ermittelte prozentuale Anteil mit 34,2 % zwar etwas niedriger, doch ließ sich hier ein zahlenmäßiger Mittelwert von 6,2 Millionen errechnen, da bei zwei Tieren Pilze dieser Gattung in einer Menge von 24,9 bzw. 76,0 Millionen nachgewiesen wurden. Die Gattungen *Penicillium* trat dagegen zurück und war mit einem durchschnittlichen Anteil von 7,9 % vertreten. Die Gattungen *Absidia* und *Geotrichum* waren ebenfalls von geringer Bedeutung. Der Anteil der 'verschiedenen Genera', wobei es sich hauptsächlich um die Gattungen *Cladosporium*, *Fusarium*, *Paecilomyces* und *Rhizopus* handelte, war gering. Im Durchschnitt konnten etwa 4.000 Pilze dieser Gattungen aus den einzelnen Faecesproben der Tiere isoliert werden, wobei der Mittelwert der prozentualen Anteile bei 2,7 lag.

Innerhalb der Gattung *Aspergillus* traten die Gruppen *A. fumigatus* und *A. glaucus* stark hervor. Im Durchschnitt waren bei den einzelnen Schweinen 35,1 % der nachgewiesenen Pilze Stämme der Gruppe *A. fumigatus*. Der zahlenmäßige Mittelwert dieser Gruppe lag bei rund 89.000, wobei es sich hauptsächlich um die Art *A. fumigatus* Fresenius, weniger um die Art *A. fumigatus* Fres. var. *ellipticus* handelte. Die Gruppe *A. glaucus* war durchschnittlich mit 25,9 % an der Gesamtzahl der Pilze der Gattung *Aspergillus* beteiligt. Dabei handelte es sich besonders um die Arten *A. repens* de Bary und *A. amstelodami* (Mangin) Thom et Church.

Die Gruppe *A. flavus* Link, die mit einem durchschnittlichen Anteil von 13,5 % beteiligt war, wurde nur durch die Art *A. flavus* Link repräsentiert. Einen stärkeren Anteil, im Durchschnitt mit 16,2 % oder 890.000 Stämmen pro Gramm Trockenmasse Kot stellte noch die Art *A. candidus* Link, während alle übrigen Pilzarten, *A. mangini* (Mangin) Thom et Church, *A. terreus* Thom, *A. nidulans* Eidam, *A. unguis* (Emile - Weil et Gaudin) Thom et Raper, *A. clavatus* Desmazières und *A. versicolor* (Vuill.) Tiraboschi, zusammengefaßt unter 'verschiedene Arten' einen geringen Anteil stellten.

Bei den Untersuchungen der im Winter geschlachteten R i n d e r zeigte es sich, daß hier neben der Gattung *Aspergillus*, die im Durchschnitt mit 41,9 % an der Gesamtzahl der isolierten Pilze beteiligt war, noch die Gattungen *Absidia* und *Penicillium* im Vordergrund standen. Dagegen war der Anteil der Gattung *Mucor* und *Geotrichum* stets gering. Es konnten im Durchschnitt 400.000 Pilze der Gattung *Absidia* und 150.000 Stämme der Gattung *Penicillium* aus einem Gramm Trockenmasse Kot isoliert werden; die prozentualen Anteile lagen im Mittel bei 26,7 bzw. 23,0. Neben den 5 genannten Gattungen kamen hauptsächlich noch Pilze der Gattungen *Cladosporium*, *Paecilomyces* und *Rhizopus* vor. Diese unter 'verschiedene Genera' zusammengefaßten Pilze waren im Durchschnitt mit 6,0 % an der Gesamtschimmelpilzflora beteiligt. Innerhalb der Gattung *Aspergillus* dominierten die Pilze der Gruppe *A. glaucus*. Der ermittelte Anteil dieser Gruppe lag im Durchschnitt bei 51,6 %, wobei 36,5 % aller isolierten Pilze der Gattung Stämme der Art *A. repens* de Bary waren. Es waren im Durchschnitt 20.000 Pilze der Art *A. repens* de Bary in einem Gramm Trockenmasse Kot enthalten. Stark vertreten, mit durchschnittlich 27,1 % an der Gesamtzahl, war noch die Gruppe *Aspergillus fumigatus*. Es konnten aber aus dieser Gruppe

nur Pilze der Art *A. fumigatus* Fresenius nachgewiesen werden. Relativ gering war die Menge der nachgewiesenen Pilze der Gruppe *Aspergillus flavus*, mit 10.000 Stämmen pro Gramm Trockenmasse Kot. Auch der prozentuale Anteil lag mit durchschnittlich 10,4 relativ niedrig. Dabei handelt es sich ausschließlich um die Art *A. flavus* Link. Gering war auch der Anteil der Art *A. candidus* Link, der durchschnittlich nur 5,4 % betrug, wobei nur 3.000 Stämme pro Gramm Trockenmasse Kot nachgewiesen wurden. Der hier ebenfalls geringe Anteil der unter 'verschiedene Arten' zusammengefaßten Schimmelpilze setzte sich zusammen aus den Arten *A. mangini* Thom et Raper, *A. versicolor* (Vuill.) Tiraboschi, *A. sydowi* (Bain. et Sart.) Thom et Church und Arten der Gruppe *A. niger*.

Auch bei den im Sommer untersuchten Kotproben von R i n d e r n war wiederum die Gattung *Aspergillus* mit durchschnittlich 40,7 % stark vertreten. Da aber der Gesamtschimmelpilzgehalt hier sehr viel geringer war als bei den Faecesproben der im Winter untersuchten Rinder, betrug der ermittelte Mittelwert der Pilze pro Gramm Trockenmasse Kot nur 10.000. Auffallend stark war der Anteil der Gattung *Geotrichum* und der unter 'verschiedene Genera' zusammengefaßten Gattungen *Cladosporium*, *Fusarium*, *Paecilomyces*, *Rhizopus* und *Trichothecium*. Die Gattung *Mucor* trat gegenüber der Gattung *Absidia* in den Vordergrund. Eine vergleichende Darstellung der unterschiedlichen qualitativen Zusammensetzung der Schimmelpilzflora der Faeces der Rinder im Winter und im Sommer wurde in der Tabelle VIII auf Seite 83 gegeben.

Innerhalb der Gattung *Aspergillus* dominierte wiederum die *A. glaucus* Gruppe. Der Anteil an der Gesamtzahl der nachgewiesenen Pilze der Gattung *Aspergillus* betrug hier 34,0 %. Innerhalb der Gruppe war es die Art *A. amstelodami* (Mangin) Thom et Church, die besonders stark vertreten war. Der Anteil war noch größer als der der Art *A. repens* de Bary. *Aspergillus chevalieri*

(Mangin) Thom et Church konnte dagegen nicht isoliert werden. Sehr hoch war der Anteil der Pilze der Art *A. candidus* Link. Der Anteil betrug im Durchschnitt 19,6 % und lag höher als der der Art *A. fumigatus* Fresenius und *A. flavus* Link. *Aspergillus fumigatus* Fresenius var. *ellipticus* Raper et Fennell waren nicht nachzuweisen. Aus der *Aspergillus flavus* Gruppe traten nur in einem Fall neben der Art *A. flavus* Link noch Pilze der Art *A. tamarii* Kita auf. Bei dem relativ hohen Anteil von durchschnittlich 12,6 %, der unter 'verschiedene Arten' zusammengefaßten Pilzarten handelte es sich um *A. pseudoglaucus* Blochwitz, *A. terreus* Thom, *A. nidulans* Eidam, *A. sydowi* (Bain. et Sart.) Thom et Church und *A. ambiguus* Sappa.

Aus den Ergebnissen der qualitativen Untersuchungen der Faeces von Schwein und Rind ist deutlich zu ersehen, daß die Schimmelpilzflora zur Hauptsache nur von wenigen Gattungen gebildet wurde. Deutlich zeigte sich eine Dominanz der Gattung *Aspergillus*. Die Gattung *Penicillium* war dagegen bei beiden Tierarten von nicht so hervorragender Bedeutung. Aus der Familie *Mucoraceae* trat beim Schwein die Gattung *Mucor* und beim Rind besonders im Winter die Gattung *Absidia* stark in den Vordergrund. Die Gattung *Geotrichum* war nur bei den im Sommer geschlachteten Rindern von Wichtigkeit. Daneben waren es noch die Gattungen *Cladosporium*, *Fusarium*, *Paecilomyces* und *Rhizopus*, die bei beiden Tierarten vorkamen. Der Anteil dieser Gattungen lag bei den Rindern etwas höher als bei den Schweinen.

Innerhalb der Gattung *Aspergillus* waren es die Pilze der Gruppe *A. glaucus*, die den größten Anteil stellten. Dabei handelte es sich besonders um die Art *A. repens* de Bary aber auch um die Art *A. amstelodami* (Mangin) Thom et Church. Letztere trat beim Rind etwas stärker in den Vordergrund. Daneben war es noch die Gruppe *Aspergillus fumigatus* mit der Art *A. fumigatus* Fresenius, die stets mit großem Anteil vertreten war. Beim Schwein trat

daneben noch die Art *A. fumigatus* Fresenius var. *ellipticus* Raper et Fennell auf. Auffällig war, daß die *Aspergillus flavus* Gruppe nur durch die Art *A. flavus* Link repräsentiert wurde. Nur in einem Fall konnten daneben Pilze der Art *A. tamarii* Kita isoliert werden, während die Art *A. parasiticus* Speare nicht nachgewiesen werden konnte. Von zahlenmäßig großer Bedeutung waren auch noch die Pilze der Art *A. candidus* Link, während alle übrigen Gruppen und Arten bei beiden Tierarten besonders aber beim Schwein in den Hintergrund traten. Es waren lediglich die Gruppen und Arten *A. mangini* Thom et Raper, *A. terreus* Thom, *A. nidulans* Eidam, *A. versicolor* (Vuill.) Tiraboschi und *Aspergillus niger*, die bei Schwein und Rind auftraten.

Ein Vergleich der in den eigenen Untersuchungen nachgewiesenen und durch Angaben von Pilzzahlen pro Gramm Trockenmasse Kot bzw. durch Berechnungen der prozentualen Anteile der Gattungen, Gruppen und Arten veranschaulichten Zusammensetzung der Schimmelpilzflora bei Schweinen und Rindern mit Ergebnissen anderer Autoren ist nicht möglich. In der vorliegenden Literatur befinden sich keine Angaben über vergleichbare Untersuchungen. Es gibt nur Hinweise, welche Pilzgattungen oder -arten im Magen-Darmtrakt oder in den Faeces der Haustiere vertreten sein sollen. In Tabelle 4 auf Seite 47 wurde eine Zusammenstellung der von verschiedenen Autoren isolierten Pilzgattungen und -arten gegeben. So setzt sich die Schimmelpilzflora des Magen-Darmtraktes nach Durchsicht der vorliegenden Literatur hauptsächlich aus den folgenden Familien oder Gattungen zusammen: Familie Mucoraceae (AINSWORTH und AUSTWICK 1955, BATISTA et al. 1961, CIENCIALA 1962, HADLOK 1968a, HOLTENIUS und NIELSEN 1957, ROLLE und KOLB 1954, SIVERS 1962, VAN UDEN und SOUSA 1957) hauptsächlich mit den Gattungen *Mucor* und *Absidia*, weniger der Gattung *Rhizopus*, Gattung *Aspergillus* (AINSWORTH und AUSTWICK 1955, BATISTA et al. 1961, CIENCIALA 1962, HADLOK 1968a, HOPFFE 1919a, b, ROLLE und KOLB 1954, SIVERS 1962, VAN UDEN und SOUSA 1957), Gattung *Penicillium* (BATISTA et al. 1961, CIENCIALA 1962, HADLOK 1968a,

HOPFFE 1919a, ROLLE und KOLB 1954), Gattung *Geotrichum* (BATISTA et al. 1961, SIVERS 1962, CIENCIALA 1962), Gattung *Cladosporium* (BATISTA et al. 1961, CIENCIALA 1962) und Gattung *Fusarium* (BATISTA et al. 1961, HOLTENIUS und NIELSEN 1957).

Alle diese Gattungen wurden qualitativ auch in den eigenen Untersuchungen in den Faeces von Schweinen und Rindern nachgewiesen. Das Schwergewicht lag hier auf den Gattungen *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Absidia* und *Geotrichum*.

Sehr wenige Angaben liegen über die aus der Gattung *Aspergillus* isolierten Pilzgruppen vor. Aus der Gattung wurden besonders Pilze der Gruppe *Aspergillus fumigatus* (BATISTA et al. 1961, HADLOK 1968a, ROLLE und KOLB 1954, SIVERS 1962), *A. niger* (BATISTA et al. 1961, CIENCIALA 1962, ROLLE und KOLB 1954), *A. glaucus* (AINSWORTH und AUSTWICK 1955, ROLLE und KOLB 1954) und *A. terreus* (BATISTA et al. 1961, HADLOK 1968a) nachgewiesen (siehe auch Tabelle 4, Seite 47). Auch hier fehlen irgendwelche quantitativen Angaben. Die in den eigenen Untersuchungen besonders häufig nachgewiesenen Pilze der *Aspergillus candidus* Gruppe wurden in der vorliegenden Literatur nicht erwähnt. Auffallend ist, daß die am stärksten vertretene *Aspergillus glaucus* Gruppe in der Literatur weder herausgestellt noch nach Artendifferenziert wurde.

Die Frage der Herkunft der in den Faeces der Schlachttiere nachzuweisenden Schimmelpilze ist eindeutig geklärt. Pilze gelangen durch die Futteraufnahme in den Magen-Darmtrakt. Innerhalb des Verdauungstraktes entwickeln sich die Pilzsporen in der Regel nicht, sie unterliegen der Verdauung oder werden unverdaut wieder ausgeschieden (GEDLER 1967, 1970, MAWKLER et al. 1966, MEHNERT 1965, ROLLE und KOLB 1954, ROLLE / MAYR 1966). Die qualitative und quantitative Zusammensetzung der Pilzflora im Futter und in der Umgebung der Tiere - in der Luft von geschlossenen Ställen befindet sich immer eine hohe Zahl von

Pilzsporen (LACEY und LACEY 1964, BARUAH 1961) - ist von entscheidender Bedeutung für die Pilzflora des Magen-Darminhalts und der Faeces. Fast alle Futtermittel enthalten Pilze (AUSTWICK 1967).

Bei der Durchsicht der Literatur, die Hinweise auf die qualitative Zusammensetzung der Schimmelpilzflora der Futtermittel für Rinder und Schweine enthält, läßt sich feststellen, daß im Futter etwa die gleichen Pilzgattungen nachzuweisen sind, die auch in den Faeces gefunden wurden. Gras und Silage und in besonderem Maße Heu enthalten Schimmelpilze in großen Mengen. Dabei handelt es sich nach Ansicht fast aller Autoren vornehmlich um die Gattung *Aspergillus*, *Penicillium*, *Absidia* und *Mucor* (AINSWORTH und AUSTWICK 1955a, BONNER und FERGUS 1957, GREGORY und LACEY 1963b, LACEY und LACEY 1964, ROLLE und KOLB 1954). Innherhalb der Gattung *Aspergillus*, die bei allen Untersuchungen den stärksten Anteil bildete, wurden die Gruppen *Aspergillus fumigatus*, *A. glaucus*, *A. niger*, *A. flavus* und *A. nidulans* am häufigsten genannt. Im Getreide ließen sich besonders die Gattungen *Aspergillus* und *Penicillium* nach GOLDMANN 1968 daneben noch die Gattung *Mucor* nachweisen (CHRISTENSEN 1957, KROG und HASSELLAGER 1968). Auch in der Stallluft sind es wieder die Gattungen *Aspergillus*, *Mucor*, *Penicillium* und *Absidia*, die überwiegend vertreten sind und deren Zahl besonders zur Futterzeit ansteigt (LACEY und LACEY 1964, BARUAH 1961).

Auf Grund der Untersuchungsergebnisse läßt sich zusammenfassend sagen, daß der Kot der Schlachttiere als eine nicht zu vernachlässigende Kontaminationsquelle für Frischfleisch und daraus hergestellte Fleischerzeugnisse mit Schimmelpilzen anzusehen ist. Geht man von der Tatsache aus, daß in den Faeces aller 40 untersuchten Schlachttiere Schimmelpilzsporen in großer Anzahl vorhanden waren, so wird offensichtlich, welche Gefahr eine Kontamination des Fleisches mit Kotpartikeln darstellt. Ist das

Fleisch gesunder und vor der Schlachtung gut ausgeruhter Tiere zunächst keimfrei (BARTELS et al. 1964, BONGERT 1934, KOLLA 1929) oder fast keimfrei (LERCHE / GOERTTLER / RIEVLL 1957), so besteht bereits beim Schlachtvorgang die Möglichkeit einer intensiven Beimpfung mit Schimmelpilzen, wenn nämlich eine direkte oder indirekte Kontamination des Fleisches durch Darminhalt nicht völlig verhindert wird. Zu einer solchen Verschmutzung kommt es stets durch mangelnde Schlachthygiene. Die Kontaminationsquelle des Magen-Darmtraktes für das Fleisch wurde vom Gesetzgeber erkannt. Auf Grund verschiedener Rechtsvorschriften wie den Hygieneverordnungen der meisten Bundesländer (HMHYG. VO 1-9), dem Durchführungsgesetz EWG-Richtlinie Frisches Fleisch (B. FL G) und der Mindestanforderungen-Verordnung (M. MIND V.) ist die getrennte Weiterverarbeitung des Magen-Darmkanals mit Inhalt nach Entnahme aus dem Tierkörper vorgeschrieben. Auch wenn so eine rechtliche Vorschrift und Vorschriften zur Reinigung und Desinfektion von Räumen und Geräten gegeben sind, bedarf es wie bei allen Hygienevorschriften einer verstärkten Kontrolle durch den Veterinärhygieniker sowie einer intensiven Erziehung und Belehrung des Schlachtpersonals, damit diese Vorschriften auch tatsächlich zum Tragen kommen.

Einmal auf irgendeine Weise beimpftes Fleisch bildet einen guten Nährboden für Schimmelpilze, deren Sporen auch noch nach 13 Jahren Zeit zum Auskeimen kommen können. Auf Grund der Tatsache, daß Schimmelpilze noch bei niedrigen Temperaturen wachsen und die Sporen bei tiefen Temperaturen unter dem Gefrierpunkt überleben können (MÜLLER 1950, MONVOISIN 1918, E. PEY und SCOTT 1938), kann auch durch Kühlung des Fleisches direkt im Anschluß an den Schlachtvorgang oder zu einem späteren Zeitpunkt die Gefahr eines Schimmelpilzwachstums nicht beseitigt werden. Zweifels- ohne stammt ein Teil der besonders auf gekühlten und gefrorenen Fleisch vorkommenden Gattungen *Penicillium*, *Mucor*, *Thamnidium* und *Cladosporium* und der auf Ferkelfleischerzeugnissen insbesondere vorkommenden Gattungen *Penicillium* und *Aspergillus* (LEISTNER

et al. 1965, 1967, HADLOK 1969a, 1970, 1971) aus unbeabsichtigten Verunreinigungen mit Faeces der Schlachttiere. An Aspergillus-Arten konnten im wesentlichen die gleichen gefunden werden, wie sie in Fleischprodukten vorkommen. Auch ist durch die Kontamination mit Faeces mit der Übertragung der Art *Aspergillus flavus* Link zu rechnen. Pilzstämme der *Aspergillus flavus* Gruppe können in der Lage sein, das nachweislich für viele Tierarten schädliche 'Aflatoxin' zu bilden, deren toxische Wirkung auf den Menschen nach dem heutigen Kenntnisstand nicht ausgeschlossen werden kann (HADLOK 1970). So kommt zu dem durch Schimmelpilzwachstum bedingten wirtschaftlichen Schaden durch den Verderb von Fleisch oder Fleischerzeugnissen noch die Gefahr einer möglichen Gesundheitsbeeinträchtigung des Verbrauchers durch Mykotoxine hinzu. Auf Grund dieser offensichtlich bestehenden Zusammenhänge, die durch eine qualitativ ähnlich zusammengesetzte Schimmelpilzflora im Futter, in der Stallluft, in den Faeces der Schlachttiere sowie im Fleisch und Fleischerzeugnissen bestätigt werden, ist mit Nachdruck darauf hinzuweisen, daß wirksame hygienische Maßnahmen zu treffen sind, um jede Verunreinigung des Fleisches mit Faeces zu verhindern. Der aus anderen Gründen von GEDEK 1970 geforderten Verbesserung der Hygiene der Futtermittel ist auch aus fleischhygienischer Sicht Nachdruck zu verleihen. Neben den bekannten Kontaminationsquellen wie den naturbelassenen Gewürzen (HADLOK 1969b) und der Luft sind auch den Faeces als potentielle Quelle für eine unerwünschte Beimpfung von Fleisch und Fleischerzeugnissen mit Schimmelpilzen erhöhte Aufmerksamkeit zu schenken.

E. Zusammenfassung

Schimmelpilze können durch Lebensmittelverderb wirtschaftliche Schäden bedingen. Außerdem ist durch bestimmte Stoffwechselprodukte von Schimmelpilzen eine nachteilige Beeinflussung der Gesundheit des Verbrauchers nicht auszuschließen. Eine unerwünschte Verschimmelung von Fleisch und Fleischerzeugnissen tritt häufig auf. Einige der in Betracht kommenden Kontaminationsquellen sind bekannt. Der Inhalt des Verdauungsweges der Schlachttiere ist eine mikrobielle Kontaminationsquelle für frisch gewonnenes Fleisch. Über die potentiellen Möglichkeiten einer quantitativen und qualitativen Schimmelpilzkontamination durch den Darminhalt liegen nur wenige Informationen vor. Mit einer für den Nachweis von Schimmelpilzen geeigneten Methode wurden 20 Kotproben von Schweinen und 20 Kotproben von Rindern auf die Gesamtschimmelpilzzahl und auf die anteilmäßige Verteilung der vorkommenden Pilzgattungen unter besonderer Berücksichtigung der vor allem bei Fleischprodukten vorkommenden und zu erwartenden Gattungen *Penicillium* und *Aspergillus* untersucht. Auf Grund der Fähigkeit einiger Arten der Gattung *Aspergillus* Mykotoxine zu bilden, wurden die aus dieser Gattung isolierten Schimmelpilze bis zur Art differenziert.

Bei allen untersuchten Tieren konnten Schimmelpilze in großer Zahl in den Faeces nachgewiesen werden. Auffallend waren die großen Unterschiede bei den einzelnen Tieren. Bei den Schweinen lagen die ermittelten Gesamtschimmelpilzzahlen pro Gramm Trockenmasse Kot zwischen 7000 und 77 Millionen. Die bei den Rindern auf Grund des unterschiedlichen Futters vermuteten Unterschiede in der qualitativen und quantitativen Zusammensetzung der Schimmelpilzflora wurden durch die Versuchsergebnisse bestätigt. Bei unterschiedlicher qualitativer Zusammensetzung wurden bei den im Winter geschlachteten Tieren Gesamtschimmelpilzzahlen gefunden,

die im Mittelwert über eine Zehnerpotenz höherlagen als bei den im Sommer geschlachteten Tieren. Im Sommer lagen die Gesamt-schimmelpilzzahlen pro Gramm Trockenmasse Kot zwischen 4.000 und 100.000, im Winter zwischen 10.000 und 5 Millionen. Der Unterschied erwies sich jedoch als nicht signifikant.

Bei der Betrachtung der nachgewiesenen Schimmelpilzflora nach den vorkommenden Gattungen fällt der starke Anteil der Gattungen *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Absidia* und *Geotrichum* auf. Innerhalb der Gattung *Aspergillus* waren die Gruppen *Aspergillus glaucus*, *A. fumigatus*, *A. flavus* und *A. candidus* besonders mit den Arten *Aspergillus repens* de Bary, *A. amstelodami* (Mangin) Thom et Church, *A. fumigatus* Fresenius, *A. flavus* Link und *A. candidus* Link stark vertreten.

Aus den Ergebnissen kann gefolgert werden, daß der Kot der Schlachttiere als eine nicht zu vernachlässigende Kontaminationsquelle für Frischfleisch und daraus hergestellte Fleischerzeugnisse mit Schimmelpilzen anzusehen ist. Die bei Fleisch- und Fleischerzeugnissen vorherrschenden Pilzgattungen waren besonders zahlreich aus den Faeces zu isolieren. Auch ist durch die Kontamination mit Kot mit der Übertragung der Art *Aspergillus flavus* Link zu rechnen, die als eine der potentiellen Mykotoxinbildner bekannt ist.

Wirksame hygienische Einzelmaßnahmen sind zu treffen, um möglichst alle Kontaminationsquellen für das Fleisch mit Schimmelpilzen auszuschließen.

F. Literaturverzeichnis

1. AINSWORTH, G.C. u. AUSTWICK, P.K.C.: A survey of animal mycoses in Britain: general aspects. Vet. Rec. 67, 88 - 97 (1955 a)
2. AINSWORTH, G.C. u. AUSTWICK, P.K.C.: A survey of animal mycoses in Britain: mycological aspects. Trans. Brit. mycol. Soc. 38, 369 - 386 (1955 b)
3. ANDERSEN, A.A.: New sampler for the collection, sizing and enumeration of viable airborne particles. J. Bact. 76, 471 - 484 (1958)
4. AINSWORTH, G.C.: Dictionary of the fungi. 5 th Ed. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, Butler and Tanner Ltd., London. 1961.
5. AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS: Cereal Laboratory, Methods. Ed. VI. Published by the Association, St. Paul, Minnesota. 1956. (zit. nach Christensen, 1957)
6. AUSTWICK, P.K.C.: The significance of fungi in animal-feeding-stuffs. In Lindberg, G.: Toxin-producing fungi and their importance in animal feeding - Proceedings of the symposium at the Agricultural College of Norway, April 1967
7. ARX, von J.A.: Pilzkunde. Verlag J. Kramer, Lehre. 1967
8. BARNETT, H.L.: Illustrated genera of imperfect fungi. Burgess Publishing Company, Minneapolis. 1965.
9. BARTELS, H., HADLOK, R., KÄFERSTEIN, F.: Bedeutung der Trennung von Schlachträumen und Fleischbearbeitungsräumen. Fleischwirtschaft 16, 1203 - 1218 (1964)
10. BARUAH, H.K.: The air spora of a cowshed. J. Gen. Microbiol. 16, 483 - 491 (1961)
11. BATISTA, A.C., DE VASCONCELOS, C.T., FISCHMANN, O., STAIB, F.: Fungos leveduriformes e filamentosos de fezes de bovinos, no recife. Publ. Inst. Micol. Univ. Recife (Brasilien) 325 (1961)

12. BESSEY, E.A.: Morphology and taxonomy of fungi. Hafner Publishing Company, New York and London . 1965
13. BONNER, R.D. u. FERGUS, C.L.: The fungus of cattle feeds. Mycologia 51, 855 - 863 (1959)
14. BONGERT, I.: Über die neuzeitliche Konservierung von Lebensmitteln, insbesondere von frisch geschlachtetem Fleisch und sonstigen Lebensmitteln tierischer Herkunft. Dt.Schlachthof - Ztg. 34, 183 (1934)
15. BROWN, A.H.S. and SMITH, G. The genus Paecilomyces Banier and its perfect stage Byssochlamys Westling. Trans. Brit. Mycol. Soc. 40, 17 - 89 (1957)
16. CHRISTENSEN, C.M.: The quantitative determination of molds in flour. Cereal Chem. 23, 322 - 329 (1946)
17. CHRISTENSEN, C.M.: Deterioration of stored grains by fungi: Bot. Rev. 23, 108 - 134 (1957)
18. CHRISTENSEN, C.M., Lopez, F.L.C. and BENJAMIN, C.R.: A new Eurotium from rough rice stored in Mexico. Mycologia 57, 535 - 542 (1965)
19. CIENCIALA, A.: Badania nad mikroflora trésci pokarmowej zwacza owiez z umzglednieniem biosyntezy kobalaminy Zootechnika. Z III, 13, 21 - 46 (1962) (zit. nach Rojahn 1968).
20. CURL, E.A.: Value of a plant groth retardant for isolating soil fungi. Can. J. Microciol. 14, 182 - 183 (1968)
21. DUDEN. Etymologie. Handwörterbuch der deutschen Sprache. Duden Verlag, Mannheim 1963
22. ECKLES, C.H., FITSCH C.P. and SEAL, J.L.: Moulds in silage and their significance in the production of desease among live stock. J. Amer. vet.med. Ass. 64, 716 - 722 (1924)

23. EMPEY, W.A. and SCOTT, W.J.: Investigation on chilled beef. Part I - Microbial contamination acquired in the meatworks. Council for Scientific and Industrial Research . Bulletin No. 126 (1939)
24. FRAZIER, W.C.: Food Microbiology. McGraw - Hill Book Company Inc., New York, Toronto, London (1967)
25. FUNDER, S.: Practical Mycology. Mannual for identification of fungi. A.W.Brøgggers Boktrykkeri A/S, Oslo / Norwegen 1961
26. GEDEK, B.: Pilzkrankheiten während der Aufzucht. Tierärztl. Umschau 22, 149 - 165 (1967)
27. GEDEK, B.: Zur schädigenden Wirkung stark keimhaltiger Futtermittel. Tierärztl. Umschau 25, 335 - 342 (1970)
28. GOLDBACH, W.: Forschungsergebnisse auf dem Gebiet von Nahrung und Ernährung, ausgewählt aus dem neueren Schrifttum. 3. Mitt. - Die Schimmelpilze in ihrer lebensmittelchemischen und -hygienischen Bedeutung. Nahrung 12, 283 - 305 (1968)
29. GRAF / HENNING / STANGE: Formeln und Tabellen der mathematischen Statistik. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1966.
30. GREGORY, P.H., LACEY, M.E.: Mycological examination of dust from mouldy hay associated with farmer's lung disease. J. Gen. Microbiol. 30, 75 - 88 (1963a)
31. GREGORY, P.H., LACEY, M.E.: Liberation of spores from mouldy hay. Trans. Brit. mycol. Soc. 46 (1), 73 - 80 (1963b)
32. HADLOK, R.: Vorkommen von Schimmelpilzen in den Faeces von Schlachttieren. Persönliche Mitteilungen (1968a)
33. HADLOK, R.: Datentabelle für die Bestimmung der Schimmelpilze der Familie Mucoraceae. Nicht veröffentlicht (1968b)

34. HADLOK, R.: Schimmelpilze bei Fleischerzeugnissen. Fleischwirtschaft 49, 455 - 460 (1969a)
35. HADLOK, R.: Schimmelpilzkontamination von Fleischerzeugnissen durch naturbelassene Gewürze. Fleischwirtschaft 49, 1601 - 1609 (1969b)
36. HADLOK, R.: Isolierung einer neuen Schimmelpilzart aus einem Rohwurstfehlfabrikat. Fleischwirtschaft 49, 1609 - 1611 (1969c)
37. HADLOK, R.: Bedeutung des Vorkommens von Schimmelpilzen für Fleischerzeugnisse. Fleischwirtschaft 50, 621 - 627 (1970)
38. HADLOK, R.: Untersuchungen über Vorkommen, Herkunft und Bedeutung von Schimmelpilzen, insbesondere der Gattung *Aspergillus Micheli ex Fries*, bei Fleischprodukten. Habilitationsschrift. Gießen 1971
39. HADLOK, R. and STOLK, A.D.: *Eurotium leucocarpum* sp. n.. *Antonie van Leeuwenhoek* 35, 9 - 12 (1969)
40. HAWKER, L.E., LINTON, A.H., FOLKES, B.F., CARLILE, M.J.: Einführung in die Biologie der Mikroorganismen. Georg Thieme Verlag, Stuttgart. 1966.
41. HESSELTINE, C.W.: Genera of Mucorales with notes on their synonymy. *Mycologia* 47, 344 - 366 (1955)
42. HESSELTINE, C.W.: The section *Genevensis* of the genus *Mucor*. *Mycologia* 46, 358 - 366 (1964)
43. HESSELTINE, C.W. and ANDERSON, P.: Two genera of molds with low temperature growth requirements. Bulletin of the Torrey Botanical Club 84, 31 (1957)
44. HESSELTINE, C.W. and ELLIS, J.J.: The genus *Absidia*. *Gongronella* and cylindricalspored species of *Absidia*. *Mycologia* 56, 568 - 601 (1964)

45. HESSELTINE, C.W. and ELLIS, J.J.: Species of *Absidia* with ovoid sporangiospores. *Mycologia* 58, 761 (1966)
46. HIRST, J.M.: An automatic volumetric spore trap. *Ann. appl. Biol.* 39, 257 - 265 (1952)
47. HOLTENIUS, P., NIELSEN, N.: On the occurrence of nitrate and nitrite reducing fungi in the rumen of sheep. *Nord. Vet. Med.* 9, 210 - 213 (1957)
48. HOF LUND, S. u. HEDSTRÖM, H.: Fortsatta undersökningar över vammens fysiologi. *Scandinavisk Veterinär-Tidskrift* 36, 129 - 160 (1946)
49. HOPFF E, A.: Bakteriologische Untersuchung über die Zelluloseverdauung. *Zbl. Bakt. I. Orig.* 83, 374 - 386 (1919a)
50. HOPFF E, A.: Über einen bisher unbekannten celluloselösenden im Verdauungstraktus vorkommenden *Aspergillus*, "*Aspergillus cellulosa*", seine Züchtung und seine Eigenschaften. *Zbl. Bakt. I. Orig.* 83, 531 - 537 (1919b)
51. KAMYSCHKO, O.P.: Fungi terrestres novi e genere *Aspergillus*. *Bot. Mater. Otd. spor. Rast. T XVI*, 91 - 95 (1963)
52. KOLK, M.: The influence of storage temperature on the mycoflora of newly harvested moist feed grain. In Lindberg, G.: Toxin-producing fungi and their importance in animal feeding. - Proceedings of the symposium at the Agricultural College of Norway, April 1967
53. KOLLE, W., KRAUS, R. und UHLENHUTH, P.: Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. 1. Band, erster Teil. G. Fischer, Jena und Urban u. Schwarzenberg, Berlin - Wien 1929
54. KROGH, P. and HASSELLAGER, E.: Studies on fungal nephrotoxicity. - Royal Veterinary and Agricultural College, Copenhagen, Denmark - Yearbook 1968, pp 198 - 214
55. LACEY, J., LACEY, M.E.: Spore concentrations in the air of farm buildings. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* XLVII, 547 - 552 (1964)

56. LEISTNER, L., AYRES, J.C. and LILLARD, D.A.: Occurrence and singficance of fungi in cured meats. Fourth Symposium of the World Association of Veterinary Food - Hygienists, Lincoln, Nebraska, U.S.A., Proceedings, P. 262 - 268 (1965)
57. LEISTNER, L. und AYRES, J.C.: Schimmelpilze und Fleischwaren. Fleischwirtschaft 47, 1320 - 1326 (1967)
58. LERCHE, M., GOERTTLER, V., RIEVEL, H.: Lehrbuch der Tierärztlichen Lebensmittelüberwachung. Verlag M. & H. Schaper, Hannover, 3. Aufl. 1957
59. LITTMANN, M.L.: A cultural medium for the primary isolation of fungi. Science 106, 109 - 111 (1947)
60. LOEFFLER, W.: Systematische Probleme um einige Pilze, die als Krankheitserreger bekannt oder dafür verdächtig sind. In "Krankheiten durch Schimmelpilze bei Mensch und Tier" - Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1965
61. MADSEN, A.: Some problems associated with the feeding of mouldy barley to pigs. In Lindberg, G.: Toxin-producing fungi and their importance in animal feeding. - Proceedings of the symposium at the Agricultural College of Norway, April 1967
62. MARTIN, J.P.: Use of acid and streptomycin in the plate method for estimating soil fungi. Soil Sience 69, 215 - 232 (1950)
63. MAY, K.R. The cascade impactor: an instrument for sampling coarse aerosols. J. Sci. Instrum. 22, 187 - 195 (1945)
64. MEHNERT, B.: Die Beteiligung von Pilzen bei Aufzucht-krankheiten des Schweines. Zbl. Vet.-med. Reihe B. 13, 201 - 205 (1966)
65. MEHNERT, B. und SCHIEFER, B.: Vorkommen von Schimmelpilz-krankheiten der inneren Organe bei Säugetieren. In "Krankheiten durch Schimmelpilze bei Mensch und Tier" - Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1965

66. MEHNERT, B.: Pilze des Verdauungstraktes. Ernährungsforschung 10, 503 - 508 (1965)
67. MONVOISIN, M.: Les moisissures des viandes congelées. Rec. med. vet. 94, 306 - 316 (1918)
68. MORENZ, J.: Geotrichum cadidum Link, Taxonomie, Diagnose und medizinische Bedeutung. Mykologische Schriftenreihe, Heft 1. Verlag J.A. Barth, Leipzig (1963)
69. MORENZ, J.: Taxonomische Untersuchungen zur Gattung Geotrichum Link. Mykologische Schriftreihe, Heft 2, S. 33, Verlag J.A. Barth, Leipzig (1964)
70. MOSSEL, D.A.A.: Mikrobiologische Qualitätsbeherrschung in der Lebensmittelindustrie. Alimenta. Sonderausgabe Mikrobiologie 1970
71. MÜLLER, R.: Medizinische Mikrobiologie. Urban & Schwarzenberg Verlag, München, Berlin 1950
72. MÜLLER, R.: Schimmel und Schimmelpilze. Alimenta. Sonderausgabe Mikrobiologie 1970.
73. PANASENKO, V.T.: Some new species of fungi on starch from the Ukraine. Mycologia 42, 58 - 63 (1964)
74. PELCZAR, M.J. and REID, R.D.: Microbiology. McGraw-Hill Book Company Inc., New York 1958
75. PESTL, L.: Qualitative and quantitative examination of the bacterial flora in the intestines of healthy pigs I & II. Acta Vet. Hung. 12, 299 (1967)
76. RAPER, K.B. and FENNELL, D.I.: The genus Aspergillus. The Williams & Wilkins Company, Baltimore 1965
77. RAPER, K.B. and THOM, C.: A Manual of the Penicillia. The Williams & Wilkins Company, Baltimore 1949
78. REINDERS, E.: Handleiding bij de Plantenanatomie, 4. Aufl. Landbouwhogeschool te Wageningen

79. RIDDELL, R.W.: Permanent stained mycological preparations obtained by slide culture. *Mycologia* 42, 265 - 270 (1965)
80. RIDGWAY, R.: Color standards and color nomenclature. Published by the Author, Washington, D.C. 1912
81. RIFAL, M.A. and COOKE, R.C.: Studies on some didymosporous genera of nematode-trapping hyphomycetes *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 49, 147 - 168 (1966)
82. ROJAHN, J.: Beschreibung der im Pansen gefundenen Bakterien und Pilze. *Wiss. Z. Univ. Halle XVII'* 68 M, H. 6. 859 - 923 (1968)
83. ROLLE, M., KOLB, E.: Zur Frage des Vorkommens von Schimmelpilzen (*Mucoraceae*, *Aspergillaceae*) im Magen-Darmkanal der Haustiere. *Zschr. Hyg.* 139, 415 - 420 (1954)
84. ROLLE / MAYR: *Mikrobiologie und allgemeine Seuchenlehre.* Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart 1966
85. SCHIPPER, M.A.A.: The zygosporic stages in heterothallic *Mucor*. *Antonie van Leeuwenhoek* 35, 189 - 208 (1969)
86. SHEERAMULU, T.: Concentration of fungus spores in the air inside a cattle shade. *Acta allerg., Kbh* 16, 337 - 346 (1961)
87. SORBHOY, A.K. and ELPHICK, J.J.: *Hemicarpeneteles paradoxus* gen. + sp. nov.: The perfect state of *Aspergillus paradoxus*. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 51, 155 - 177 (1968)
88. SIVERS, V.S.: Die Menge mikroskopischer Pilze im Rinderpansen bei Winter- und Sommerhaltung (i.ukrain.) *Mikrobiol. Zurmal Kiiv* 24, 51 - 58 (1962) (zit. nach Rojahn, 1968)
89. STATES, S.J. and CHRISTENSEN, M.: *Aspergillus leporis*, a new species related to *Aspergillus flavus*. *Mycologia* 58, 738 - 742 (1966)

90. TAINISH, A.R.: The gross national waste of food grain.
In Lindberg, G.: Toxin-producing fungi and their
importance in animal feeding - Proceedings of the
symposium at the Agricultural College of Norway,
April 1967
91. THOMKE, S.: Influence of various factors on the mould
flora of newly harvested feed grain, stored under
mould-promoting conditions. In Lindberg, G.: Toxin-
producing fungi and their importance in animal feeding. -
Proceedings of the symposium at the Agricultural
College of Norway, April 1967
92. UDEN, van N. and SOUSA, L.D.: Yeasts from the bovine caecum.
J. Gen. Microbiol. 16, 385 - 395 (1957)
93. VRIES, De G.A.: Contribution to the knowledge of the genus
Cladosporium Link ex Fr..Proefschrift, Ultgeverij +
Drukkerij, Baarn 1952
94. VRIES, De G.A.: Aspergillus fumigatus and actinomycetes
in air. Acta allerg., Kbh 15, 99 - 106 (1960)
95. WÖHLBIER, W.: Fütterungslehre. Eugen Ulmer Verlag, Stuttgart /
z.Z. Ludwigsburg 1949
96. WUNDRAM / SCHÖNBERG: Tierärztliche Lebensmittelüberwachung.
7. Aufl. Verlag Paul Parey, Berlin u. Hamburg, 1962
97. ZYCHA, H.: Pilze II. Mucorineae in: Kryptogamenflora der
Mark Brandenburg. Verlag Gebrüder Borntraeger,
Leipzig 1935
98. N.N., HYG.-VO, 1: Polizeiverordnung des baden-württembergi-
schen Innenministeriums über die Behandlung von Lebens-
mitteln tierischer Herkunft vom 28.7.1959 (GesBl.
Baden-Württemberg S. 138)
99. N.N., HYG.-VO, 2: Bayerische Landesverordnung über den
Verkehr mit Lebensmitteln tierischer Herkunft. (LMVT)
vom 4.12.1969 GVBL. S. 389

100. N.N., HYG.-VO, 3: Verordnung über die hygienische Behandlung von Lebensmitteln (Lebensmittelhygiene-VO) vom 30.5.1967 GVBl. Nr. 36, 786 (Berlin)
101. N.N., HYG.-VO, 4: Polizeiverordnung über die hygienische Behandlung von Lebensmitteln tierischer Herkunft (Hygiene Verordnung), vom 28.11.1968 (Bremen)
102. N.N., HYG.-VO, 5: Verordnung über die Hygiene beim Umgang mit Lebensmitteln tierischer Herkunft (Hygiene Verordnung), vom 17.12.1968 GVBl. Teil I Nr. 59, S. 298 (Hamburg)
103. N.N., HYG.-VO, 6: Polizeiverordnung des Landes Hessen über die hygienische Behandlung von Lebensmitteln tierischer Herkunft, vom 14.7.1956 (GVBl. S. 131)
104. N.N., HYG.-VO, 7: Niedersächsische Verordnung über die hygienische Behandlung von Lebensmitteln tierischer Herkunft, vom 7.10.1959 (GVBl. Nr. 21, S. 127)
105. N.N., HYG.-VO, 8: Verordnung über die hygienische Behandlung von Lebensmitteln tierischer Herkunft (Hygiene Verordnung) vom 16.11.1962 (GV. NW. S. 573) in der Fassung der Verordnung zur Veränderung der Hygieneverordnung vom 23.2.1968 (GVBl. NW. 1968, S. 32) (Nordrhein-Westfalen)
106. N.N., HYG.-VO, 9: Verordnung über die hygienische Behandlung von Lebensmitteln tierischer Herkunft, vom 13.6.1966. (GS Schl.-H. Gl. Nr. 2125) (Schleswig-Holstein)
107. N.N. Fr Fl G: Gesetz zur Durchführung der Richtlinien des Rates der Europäischen Wirtschaftsgemeinschaft zur Regelung gesundheitlicher Fragen beim innergemeinschaftlichen Handelsverkehr mit frischem Fleisch (Durchführungsgesetz EWG-Richtlinie Frisches Fleisch - FrFlG) vom 28.6.1965 in der Fassung vom 24.5.1968. (Bundesgesetzblatt I S. 503)
108. N.N. Mind. V.: Verordnung über Mindestanforderungen und Gesundheitserzeugnisse für den Export von Fleisch in die Bundesrepublik Deutschland (Mindestanforderungen - Verordnung - Mind V) vom 23.7.1965 in der Fassung vom 8.8.1967 (Bundesgesetzblatt I S. 901).

Ein Teil der beschriebenen Untersuchungsergebnisse wurde mit Genehmigung des Direktors des Instituts für Tierärztliche Nahrungsmittelkunde bereits in folgender Arbeit veröffentlicht:

KLARE, H.J.: Die Bedeutung des Darminhaltes von Schlachttieren als Ursache für die Kontamination von Fleisch und Fleischerzeugnissen mit Schimmelpilzen. Fleischwirtschaft 50, 1507 - 1510 (1970)

Nach Abschluß dieser Arbeit möchte ich meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. H. Bartels, für die Überlassung des interessanten Themas im Rahmen der Schwerpunktarbeit des Institutes auf mykologischem Gebiet und die großzügig gewährte Unterstützung meinen aufrichtigen Dank aussprechen.

Mein Dank gilt besonders auch Herrn Adademischen Oberrat Dr. Hadlok für die verständnisvolle Bereitschaft, jederzeit mit mir die Probleme der Arbeit zu diskutieren und mich durch Vermittlung besonderer methodischer Erfahrungen zu unterstützen.

Weiterhin danke ich allen Angehörigen des Institutes für Tierärztliche Nahrungsmittelkunde der Justus-Liebig-Universität, insbesondere der medizinisch-technischen Assistentin, Frau E. Rau, die mir bei der Durchführung der experimentellen Arbeiten behilflich waren.

Lebenslauf

Am 4. Februar 1943 wurde ich als Sohn des Diplomlandwirtes Dr. Friedrich Klare und seiner Ehefrau Annelene geb. Heim in Berlin-Wilmersdorf geboren. Von Ostern 1949 bis Dezember 1952 besuchte ich die Volksschule in St. Annen-Oesterfeld / Norder-Dithmarschen. Bis zur Aufnahme in das Gymnasium besuchte ich dann die Volksschule in Bad Homburg-Kirdorf. Von Ostern 1953 bis zur Reifeprüfung im März 1962 war ich Schüler der Kaiserin-Friedrich-Schule in Bad Homburg.

Nach einem einjährigen Aufenthalt in der Republik von Südafrika immatrikulierte ich mich an der Universität von Kapstadt und belegte von Februar bis Oktober 1963 naturwissenschaftliche Vorlesungen und Übungen. Im Wintersemester 1963/64 begann ich mit dem Studium der Veterinärmedizin an der Justus Liebig-Universität in Gießen. Im März 1966 bestand ich die Tierärztliche Vorprüfung. Ein klinisches Semester, das Wintersemester 1966/67, studierte ich an der Ludwig Maximilians-Universität in München, um dann wieder nach Gießen zurückzukehren. Nach bestandener Tierärztlicher Prüfung erhielt ich am 11. November 1969 die Approbation als Tierarzt.

Seit Januar 1970 bin ich als Verwalter einer wissenschaftlichen Assistentenstelle am Institut für Tierärztliche Nahrungsmittelkunde der Justus Liebig-Universität tätig.

